Die forensische Bedeutung der Fäulnishemmung durch Antibiotikabehandlung nach tierexperimentellen histochemischen Enzymuntersuchungen der Adenosintriphosphatase und der Cytochromoxydase

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von

Dieter SCHUMANN

Saarbrücken

1970

Druck:
Universitätsbibliothek Saarbrücken

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik
an der Johannes Gutenberg - Universität, Mainz
Direktor: Prof. Dr. med. H. Leithoff

Die forensische Bedeutung der Fäulnishemmung durch Antibiotikabehandlung nach tierexperimentellen histochemischen Enzymuntersuchungen der Adenosintriphosphatase und der Cytochromoxydase.

I N A U G U R A L D I S S E R T A T I O N

zur Erlangung der Doktorwürde der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

1970

vorgelegt von

Dieter Schumann

geb. am 30.1.1940 in Mainz

Dekan: Professor Dr. med. G. Dhom
Referent: Professor Dr. med. H.-J. Wagner

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Die mündliche Promotionsprüfung wurde am
9. November 1970 abgelegt.

Die forensische Bedeutung der Fäulnishemmung durch Antibiotikabehandlung nach tierexperimentellen histochemischen Enzymuntersuchungen der Adenosintriphosphatase und der Cytochromoxydase.

A Allgemein

I. Der Nachweis der Beeinflussung von Leichenerscheinungen durch endogene und exogene Faktoren.

a) Leichenschau
b) Sektion
Makroskopisch
Histologisch
Histochemisch
Bakteriologisch

II. Die Bedeutung der histochemischen Nachweismethoden in der Pathologie und Gerichtsmedizin.

B Speziell

III. Über Cytochromoxydase

a) Eigenschaften und Funktion
b) Vorkommen
c) Geschichte des histochemischen Nachweises und dessen Spezifität.

IV. Über Adenosintriphosphatase

a) Eigenschaft und Funktion
b) Vorkommen
c) Geschichte des histochemischen Nachweises und dessen Spezifität.

V. Eigene Untersuchungen.

a) Vorversuche
b) Hauptversuche

Material und Methode
Statistische Auswertung der Ergebnisse
Die Ergebnisse im Einzelnen

A. Makroskopisch
B. Mikroskopisch

1. HE-Färbung
a) Herz
b) Niere

2. Cytochromoxydaseaktivität
a) Herz
b) Niere

3. Adenosintriphosphataseaktivität
a) Herz
b) Niere

VI. Besprechung

VII. Zusammenfassung

VIII. Abbildungen

IX. Literaturangabe

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41542726_0046

I. Der Nachweis der Beeinflussung von Leichenerscheinungen durch endogene und exogene Faktoren.

Die ersten Veränderungen an der Leiche, die wir als sichere Todeszeichen werten, sind der Temperaturabfall, die Totenstarre und die Totenflecke. Sie treten in ihrem zeitlichen Verlauf und in ihrer Reihenfolge in bestimmten Gesetzmäßigkeiten auf, die von dem jeweils vorgefundenen Zustandsbild aus einen Rückschluß auf die Todeszeit innerhalb gewisser zeitlicher Grenzen erlauben. Diese schließen aber schon für die bereits kurz nach dem Tod erfolgenden Veränderungen einen unbefriedigenden Spielraum ein, der um so größer wird, je weiter der Todeseintritt zurückliegt. Die hieraus resultierenden Schwierigkeiten bei der Beurteilung der Todeszeit haben ihre Ursachen in den vielfältigen Möglichkeiten der Beeinflussung der Vorgänge, die nach dem Tod im Organismus ablaufen.

a) Leichenschau

Der Temperaturabfall, der aus dem rein physikalischen Vorgang des Temperaturausgleiches zwischen totem Körper und der Außentemperatur resultiert, ist entscheidend von letzterer abhängig. Mueller 69) 7o) und Schleyer 94) versuchten unter Berücksichtigung der jeweiligen Temperaturen zu brauchbaren Ergebnissen im Hinblick auf die Todeszeit zu kommen, jedoch sind diese Daten nicht immer festzustellen. Der Ernährungszustand der Leiche beeinflußt den Temperaturabfall dahingehend, daß dieser bei magerem Körper schneller erfolgt. Eine ante mortem durchgeführte Antibiotikabehandlung zeigt keinen Einfluß auf den Temperaturabfall (Herzau 39)).

Die Ausbildung der Totenstarre unterliegt in hohem Maße der Temperatur (Morgenstern 67)). Ferner sind der Wasser- und Blutgehalt, ebenso wie der Kräfte- bzw. Erschöpfungszustand für die Ausbildung der Totenstarre von Bedeutung. Hier sei an die Glycogen und ATP verarmte Muskulatur des gehetzten Wildes erinnert, die sofort nach Todeseintritt erstarrt.

Wagner 1o6) und Herzau 39) zeigten, daß nach einer ante mortem durchgeführten Antibiotikabehandlung die Totenstarre ebenfalls beschleunigt eintritt und ihre Lösung mitunter wesentlich verzögert erfolgt.

Der Zeitpunkt, bis zu dem die Totenflecke noch wegdrückbar sind, um dann durch Austritt des Blutfarbstoffes in die nicht mehr wegdrückbaren Diffusionstotenflecke überzugehen, unterliegt ebenfalls großen Schwankungen abhängig von der Temperatur und der Zeit (Müller 71)).

Die bei der Leichenschau in Erscheinung tretenden Veränderungen durch Fäulnis (s.u.), wie eine grünliche Verfärbung der Haut in den Leistenbeugen, das Durchschlagen des Venennetzes, sowie eine rötliche-grüne Abhebung der Epidermis, bzw. die Lösung der Fellhaare bei Versuchstieren, lassen Vermutungen über die Todeszeit auch nur innerhalb weiterer Grenzen zu. Hierbei ist die Kenntnis der Umweltverhältnisse am Leichenaufbewahrungsort unerläßlich. Außer der Temperatur und der Feuchtigkeit ist die spezielle Aufbewahrungsart von Bedeutung.

Ob die Leiche an der Luft oder im Erdgrab, frei oder verpackt, unter Luftabschluß oder Luftzutritt gelegen hat, oder ob ante mortem Antibiotika verabfolgt wurden, entscheiden das morphologische Bild (Selles 98), Wagner 1o5), Reh 88)).

b) Sektion

Makroskopisch

Die bei der Sektion in Erscheinung tretenden Veränderungen, Entwicklung von Fäulnisgasen, Zersetzungsgeruch, Verfärbung des Bauchfelles und der inneren Organe, sowie deren Konsistenzverlust treten nach Minovici, Kernbach, Cotutiu 63) und Walcher 108) in Abhängigkeit von der Zeit, der Temperatur, der Feuchtigkeit und der Aufbewahrungsart verschieden schnell ein. Wagner 106) beobachtete diese Veränderungen in Abhängigkeit von einer ante mortem durchgeführten Antibiotikabehandlung und sah die Ursache hierfür nicht ausschließlich in der Reduzierung der bakteriellen Besiedlung. Wagner und Gillissen 107) zeigten, daß der Bakteriengehalt neben der Temperatur, der Feuchtigkeit und Aufbewahrungsart für das Ausmaß und den zeitlichen Ablauf der genannten Veränderungen mitverantwortlich ist.

Auch erwies sich die postmortale Verdauung nicht nur von der Quantität der zugeführten Speise abhängig, sondern auch von der Temperatur (Merkel 62)). Die Verflüssigung des Körperfetts zeigt sich ebenfalls von der Außentemperatur abhängig.

Histologisch

Histologisch trat das Verschwinden der Zellkerne und feinerer Gewebsstrukturen abhängig von der Temperatur und des Aufbewahrungsortes verschieden schnell ein (Gößner 27)). Wagner 106) beobachtete, daß diese Veränderungen bei antibiotisch behandelten Tieren gegenüber unbehandelten Kontrolltieren deutlich verzögert eintraten.

Frühe Aussagen über den Zelltod konnte Laves 59) durch Anwendung gepufferter Methylenblaulösung machen, da es

durch Wechsel der elektrostatischen Eigenschaften der Zelleiweißkörper und der Verschiebung des isoelektrischen Punktes zu Veränderungen der Anfärbbarkeit kommt. Strugger 103) zeigte, daß die lebende Zelle Akridinorange nur bis zur Grünfluoreszens aufnimmt. Die frühesten postmortalen morphologischen Zellveränderungen konnte Zollinger 114) mit der Phasenkontrastmikroskopie beobachten. Anhand von transplantierbaren Tumorzellen ermittelte er den Grad der Veränderungen, bis zu dem eine Umkehr möglich war. Zollinger zeigte auch, daß die Geschwindigkeit, mit der diese Veränderungen eintreten, von der Temperatur abhängig ist.

Histochemisch

Die Leichenveränderungen durch Autolyse, worunter man die postmortalen Abbauvorgänge des Organismus durch dessen gewebseigene Enzyme versteht, sind ebenfalls der Temperatur (Sebastiani 97) unterworfen. Die Wasserstoffionenkonzentration, zu deren Abfall es im Laufe der Autolyse kommt, ist von großem Einfluß auf die Tätigkeit der zum Eiweißabbau wichtigen Enzyme (Kathepsinoptimum bei pH 4 Grassmann und Müller 35)). Jedoch erfolgt der pH Abfall nicht kontinuierlich (Gräff und Rappoport 34)). Die Geschwindigkeit der Auflösungsprozesse der einzelnen Organe ist entscheidend von ihrem Fermentgehalt abhängig, was das schnelle Verschwinden der differenzierten und enzymreichen Zellen von Pankreas, Leber, Nebennieren und Gehirn anschaulich macht.

Gößner 27) sah die Dauer der Enzymnachweisbarkeit von der Temperatur des Aufbewahrungsortes abhängig. Bei steril entnommenen und aufbewahrten Rattennieren fand sich nach 12 Tagen und 37° C eine deutliche Abnahme der sauren und der alkalischen Phosphatase und einiger Esterasen. Bei 4° C blieb die Aktivität der untersuchten Enzyme weitgehend gleich. Bei Belassung der Organe in Situ bei 15° C

waren die Aktivitäten noch nach 72 Stunden in etwa unverändert. Auch Holzner und Kaufmann 43) fanden die ersten Veränderungen der Adenosintriphosphataseaktivität bei 4° C in der Rattenleber nach 18-24 Stunden und in der Niere nach 4 Stunden; bei 18-22° C in der Leber nach 4 Stunden und in der Niere nach 2 Stunden. Yazdanfar 113) konnte eine längere Nachweisbarkeit von Fermentaktivitäten bei mit Antibiotika behandelten Ratten gegenüber Kontrolltieren nachweisen. Eger (13,14,15) und Markowitz et al. 61) konnten experimentell erzeugbare Gewebsnekrosen durch Antibiotika-Verabfolgung teilweise oder vollständig verhüten.

Zur Erklärung dieser Beobachtungen dienen einmal die "unspezifischen", von Eger 13) als "Stabilisierung von Fermentsystemen" bezeichneten Stoffwechseleinflüsse der Antibiotika. Zum anderen kann nach Wagner 106) im Hinblick auf die Untersuchungen von Jacobsen und Azevado 45) die Hemmung der eiweißspaltenden Fermente durch die Antibiotika an der konservierenden Wirkung beteiligt sein.

Bakteriologisch

Die der Autolyse ohne deutlichen Übergang folgende Fäulnis, worunter die postmortalen Abbauvorgänge des Organismus durch Bakterien zu verstehen sind, unterliegt in gleicher Weise den Einflüssen der Zeit, Temperatur, Luftfeuchtigkeit, Blut- und Wassergehalt der Gewebe und dem Ausmaß der bakteriellen Besiedlung. Ferner verlaufen die Autolyse- und Fäulnisveränderungen nach einer ante mortem durchgeführten Antibiotikaverabfolgung wesentlich verlangsamt (Wagner 105), 106)).

Die im Zusammenhang mit der Fäulnis erwähnte bakterielle Besiedlung ist für die postmortalen Abbauvorgänge zwar von Bedeutung (Specht 101)), jedoch für deren langsameren Verlauf nach vorausgegangener Antibiotikabehandlung

nicht allein entscheidend. Wagner 1o6) sah mit den breitwirkenden Tetrazyclinen den stärksten Konservierungseffekt. Es unterschieden sich aber die Keimzahlen der behandelten und gut erhaltenen Tiere nicht auffällig von denen der weitaus mehr gefaulten Kontrolltiere (Wagner und Gillissen 1o7)). Diese Autoren zeigten auch die quantitative Beeinflussung der Schwefelwasserstoffbildung von Proteusbakterien durch subbakteriostatische Antibiotikakonzentrationen von Aureomycin und einer Kombination von Penicillin und Streptomycin.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß die postmortalen Vorgänge den unterschiedlichen Einflüssen der Zeit, der Temperatur, der Feuchtigkeit, des Bakterienbefalles, sowie des Fermentgehaltes und einer ante mortem erfolgten Antibiotikabehandlung unterworfen sind. Da diese Einflüsse fast nie verläßlich erfaßt werden können, bietet sich nur schwer die Möglichkeit, die Todeszeitbestimmung genau zu ermitteln.

II. Die Bedeutung der histochemischen Nachweismethoden in der Pathologie und Gerichtsmedizin

Die Histochemie ist fast ebenso alt, wie die Histologie (Sandritter 93)). "Sie erfuhr aber erst nach Lisons "Histochimi animale" 1936 und der Entdeckung der Nachweismethode für alkalische Phosphatase durch Takamatsu und Gomorri 1939 einen gewaltigen Aufschwung" (Graumann und Neumann 36)S.2).Während vor dieser Zeit das Interesse fast ausschließlich den Oxydoreduktasen, insbesondere den Oxydasen, galt, wurden danach besonders die Dehydrogenasen und Hydrolasen, vereinzelt auch Transferasen, untersucht.

Die Histochemie ermöglicht die Zuordnung von Bausteinen und Stoffen sowie Stoffwechselfunktionen zu bestimmten Gewebsstrukturen. Damit schlägt sie eine Brücke zwischen Morphologie und Biochemie, deren quantitative Aussagen ja die Zerstörung des morphologischen Substrates zur Voraussetzung haben.

Die topographische Erfassung von Gewebsbausteinen und Stoffwechselvorgänge empfiehlt die histochemischen Methoden nicht nur zur Erforschung der physiologischen Verhältnisse, sondern ebenso der pathologischen.

Da den histomorphologischen Veränderungen solche von Gewebsbausteinen und Stoffwechsel- (Ferment-) leistungen vorausgehen, vermögen die histochemischen Methoden mitunter nicht nur Auskunft über die Art und Lokalisation der Veränderung zu geben, sondern auch zu deren frühesten Erkennen zu führen.

Pathologie

Aus der umfangreichen Literatur über die Früherkennung des Herzinfarktes mittels histochemischer Methoden sei hier nur kurz auf einige Untersuchungen eingegangen,

die die Fermente der vorliegenden Arbeit berücksichtigen.

Burstone und Miller 10) sahen bei 1 1/2 bis 4 1/2 Tage alten Herzinfarkten eine stufenweise Abnahme der Cytochromoxydaseaktivität bis zum völligen Verschwinden. Hierbei zeigte sich das Infarktgebiet durch eine Übergangszone graduierlicher Disorganisation der sarkosomalen Struktur und Bildung großer scholliger Granula ab.

Bajusz und Jasmin 3) und Hecht 37) wiesen bei der Ratte nach Unterbindung einer Kranzarterie einen Cytochromoxydaseaktivitätsabfall ab der dritten Stunde nach. Nach 72 Stunden war keine Aktivität mehr zu registrieren. Fine et al. 18) hingegen beobachteten ähnlich wie Kauffman et al. 54) eine Abnahme nicht vor der 6-12ten, bzw. 18-24ten Stunde. Nach 72 Stunden fanden Kauffman et al. die Aktivität ebenfalls erloschen. Morals und Fine 66) stellten beim menschlichen Herzinfarkt den Beginn der Aktivitätsabnahme ebenfalls nicht vor der 12-18ten Stunde fest. Nach 72 Stunden war nur noch geringe Aktivität nachweisbar.

Bajusz und Jasmin 4) sahen nach chemischer Myokardschädigung (plasmocid) eine Verminderung der Cytochromoxydaseaktivität nur in bereits nekrotischen Muskelfasern, nach methoxamin (Bajusz und Jasmin 5) allerdings vor Auftreten strukturell faßbarer Veränderungen.

Hecht 37) stellte selbst nach 6 Tagen Ischämiedauer keine Änderung der myofibrillären ATPase-aktivität (pH9,4) fest. Ihr Verschwinden trat erst nach völliger Autolyse der Fasern ein. Die mitochondrale ATPaseaktivität (pH 7,5) zeigte in unfixierten Schnitten ein ähnliches Verhalten. In fixierten Schnitten (Formol-Ca) war nach einer Stunde ein Anstieg, nach 24 bzw. 48 Stunden ein Abfall der Aktivität zu verzeichnen.

Fine et al. 18) sahen weder bei pH 7,5 noch bei pH9,2 eine Verminderung der ATPaseaktivität im geschädigten Myokard (bis zu 51 Stunden). Sie lehnten deshalb den ATPasenachweis als ungeeignet zur Infarktdiagnose ab. Ähnlich urteilten Morales et Fine 66) aufgrund der mäßigen Aktivität und unregelmäßigen Verteilung.

Beim experimentellen Niereninfarkt fanden Rudolph und Scholl 92) die Succindehydrogenase als empfindlichstes Ferment. Eine Aktivitätsabnahme war bereits nach 2 Stunden, völliges Verschwinden nach 12 Stunden zu verzeichnen. ATPase war nach 24 Stunden nicht mehr nachzuweisen.

Aus der Fülle der Literatur über Anwendung histochemischer Nachweismethoden bei Vergiftungen seien ebenfalls nur einige Untersuchungen erwähnt, die die Fermente der vorliegenden Arbeit betreffen. Jonek et al. 47) sahen in der durch Hg-Dampf gesättigten Kaninchenleber manchmal einen Anstieg, meist aber ein Absinken der Cytochromoxydaseaktivität. Nach CCl_4 Schädigung fanden Petzold 82) und Friede 21) ein Absinken. Friede beobachtete hierbei den Abfall in den verfetteten Läppchenzentren, während in der fettfreien Peripherie stärkere Aktivität vorlag.

Ebenfalls nach CCl_4 Schädigung verzeichnete Cotutui 11) in Rattenlebern ein Absinken der ATPaseaktivität. Goslar et al. 3o) beobachteten unregelmäßige, fleckige Ausfälle, die nach 21 Tagen bei behandelten, ebenso wie bei nicht behandelten Vergleichstieren wieder das normale Bild zeigten.

Nach Quecksilberdampf stellten Jonek et al. 48) in der Kaninchenleber bei Ca-Formol fixierten Schnitten keine wesentlichen Unterschiede in der ATPaseaktivität fest. Bei Kryostatschnitten allerdings ein Absinken unterschiedlichen, mitunter starken Ausmaßes. Im Gegensatz zu den Kontrollschnitten lag in der Läppchenmitte die stärkste Konzentration vor.

In der Niere erwies sich die ATPasereaktion unterschiedlich. Während sie beim Großteil der Kanälchen abgeschwächt war, zeigte sie sich sonst unverändert oder gar gesteigert (Jonek et al. 49)). Einen Reaktionsanstieg der ATPase registrierten Jonek et al. 5o) in der Kaninchenleber nach Manganvergiftung. Allerdings lagen auch hier erhebliche Aktivitätsschwankungen vor. Die Autoren erwägen eine Aktivitätssteigerung durch Mn. Nach Benzolvergiftung war der ATPase aktivitätsabfall jedoch deutlich (Jonek et al 51)).

Fasske 17) untersuchte im akuten Entzündungsfeld mit enzymhistochemischen Methoden elf Dehydrogenasen. Er fand einen Anstieg der Glycerinaldehyd-3-phosphatdehydrogenase, ferner der Succindehydrogenase und, wenn auch schwächer, der TPN-gebundenen Isocitronensäuredehydrogenase. Fasske kam so zu der Annahme, daß die Steigerung der Stoffumsätze in der Initialphase auf gesteigerter Glykolyse und Zellatmung beruhen.

Bei experimentellen Vitamin B6-Mangel zeigte Cytochromoxydase keine Abweichung von der Norm (Hecht 38)).

Bei Hepatitis beobachteten Holzner und Stefanelli 44) im akuten Stadium eine Aktivitätsabnahme der ATPase in den Teilen der Leberzellen, die die Kanälchen begrenzen. In den Sinusoiden erwies sich die Aktivität im akuten und im abklingenden Stadium der Hepatitis deutlich vermehrt. Ebenfalls in den periportalen Feldern. Der ATPase-nachweis eignet sich sehr zur Darstellung der Gallekapillaren, die als Reaktion nach abgeklungenen Hepatitiden und nach Cholostase eine vermehrte Schlängelung und Verästelung aufweisen.

Histochemische Methoden finden auch Anwendung in der Tumordiagnostik. Auf der Grundlage der Aktivität der alkalischen Phosphatase teilt Willighagen (111) die menschlichen Tumoren in drei Gruppen, solche mit, ohne und mit stellenweiser Aktivität. Die genaue Kenntnis der einzelnen Gruppen ermöglicht mitunter die Diagnose schneller und sicherer zu stellen, als aus dem histologischen Bild. Auch weisen bestimmte Tumoren einen charakteristischen Reichtum an bestimmten Enzymen auf. So sind Magencarcinome (bes. Scirrhus) reich an Aminopeptidase, Retikulumzellcarcinome weisen hohe ATPaseaktivität auf, im Gegensatz zu anaplastischen Carcinomen, die keine derartige Aktivität besitzen.

Gerichtsmedizin

Auf die Bedeutung der Anwendung histochemischer Methoden bei autolytischen Prozessen, die für Pathologie und Gerichtsmedizin gleichermaßen von Interesse sind, wurde bereits im ersten Kapitel eingegangen. Ebenfalls von großer Wichtigkeit ist in der Gerichtsmedizin die Frage, ob eine Verletzung intravital oder postmortal entstanden ist. Als sichere Zeichen der vitalen Entstehung gelten nach Mueller 72) nur die thrombotischen Veränderungen an verletzten Gefäßen und die Entzündungsreaktionen. Ihre Ausbildung erfordert durchschnittlich 4-8 Stunden. Da den histologischen Veränderungen funktionelle vorausgehen, die ihrerseits auf der Tätigkeit von Enzymen beruhen, versuchte Raekallio 87), diese frühen Fermentveränderungen histochemisch darzustellen. Er konnte so bereits vor Auftreten der histologischen Veränderungen Aufschluß darüber gewinnen, ob eine vitale oder postmortale Verletzung vorlag. Raekallio fand, daß die ATPaseaktivität der dermalen Fibroblasten und Kapillaren in der

2oo-5oo µ tiefen inneren Wundzone bereits eine Stunde nach vitaler Verletzung verschwindet, während eine Zunahme in der äußeren Wundzone zu verzeichnen ist. Ersteres als negative vitale Reaktion, letzteres als positive vitale Reaktion bezeichnet, erlaubt bei Ausbleiben die Annahme, daß die Wunde entweder post mortem, oder weniger als eine Stunde vor der Tat erzeugt worden ist. Ähnliches Verhalten wie die ATPase zeigten unspezifische Esterasen, ß-Glucuronidase und Monoaminooxydase, Succindehydrogenase und saure Phosphatase erst vier Stunden, und Transferasen und unspezifische alkalische Phosphatase erst acht Stunden nach der Verletzung die beschriebenen Veränderungen. Ferner vermag Raekallio durch gleichzeitige Anwendung der verschiedenen Enzymnachweise und Beurteilung der Aktivitäten eine Altersbestimmung von Wunden, die 1-16 Stunden vor dem Tod entstanden sind, vorzunehmen.

Pioch 83) untersuchte u.a. mit histochemischen Fermentnachweisen thermische Hautschäden. Er kam zu ähnlichen Resultaten wie Raekallio. Für die unspezifische Esterase fanden sich reproduzierbare Befunde einer extrazellulären Fermentanreicherung (Plasma- und Serumfermente) in der Umgebung vitaler Verbrennungen bereits nach 3o Minuten. Eine besondere Bedeutung für die Erkennung vitaler Frühveränderungen nach thermischen Hautschäden kommt den histochemischen Proteinnachweisreaktionen zu, da regelmäßig eine positive Zone den geschädigten Bezirk demarkiert und die Ausbildung einer zweiten und dritten Reaktionszone mit zunehmender Überlebenszeit ein zusätzliches Merkmal für die Altersbestimmung der Verbrennung bietet.

III. Über Cytochromoxydase

a) Eigenschaften und Funktion

Cytochrom a und a_3 sind durch ihre Spektren unterschieden. Nach neueren Erkenntnissen scheint es sich um zwei Zustände eines Enzymes, der Cytochromoxydase zu handeln, die mit dem Warburg'schen Atmungsferment identisch sein dürfte. Das Enzym wurde als einheitliches Protein mit einem Mol von 53oooo erhalten. Es enthält als prosthetische Gruppe 6 Mol. Cytohämin, ein Eisenporphyrin mit abgewandelten Seitenketten, das nicht rot, sondern grün gefärbt ist. Außerdem wurden 3 Atome Cu pro Mol Cytohämin in Cytochromoxydasepräparaten gefunden, und es ist nicht unwahrscheinlich, daß das Cu durch Valenzwechsel an der katalytischen Funktion beteiligt ist.

Dieser Komplex ist die eigentliche Endoxydase, dasjenige Enzym der Atmungskette, das mit dem Atmungssauerstoff reagiert. Der Sauerstoff wird mit Elektronen beladen, das Cytohämin macht dabei einen Valenzwechsel durch (Karlson 53)).

b) Vorkommen

Cytochromoxydase kommt in allen tierischen Zellen mit Ausnahme der Erythrozyten und der anaeroben Bakterien vor. Die zelluläre Verteilung ergibt den größten Anteil in den Mitochondrien (in der Leber) etwa 4/5, im Kern findet sich etwa 1/5 und in den Mikrosomen etwa 1/2o (Dannenberg 12)).

Der Gehalt variiert von Tier zu Tier und von Organ zu Organ, wobei eine Abhängigkeit von der Intensität des Stoffwechsels und von den oxydativen Möglichkeiten der betreffenden Organe besteht. So sind die reichsten

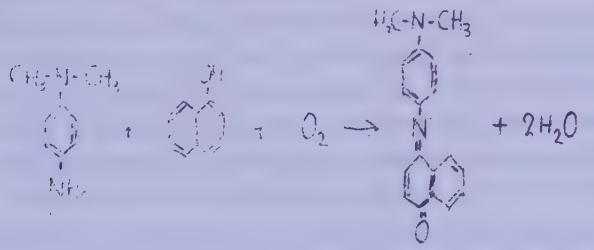
Quellen Herzmuskel und Nieren. Hierbei bestehen enge Beziehungen zwischen den Aktivitäten des Cytochromoxydasesystems und der Zahl der Mitochondrien (Schmidt 95)). Nach Karlson 53) ist das gesamte Atmungsferment Cytochromoxydase in den Mitochondrien lokalisiert, eng verknüpft mit der ATP-Produktion und dem Citronensäurezyklus, sowie mit dem am Fettabbau beteiligten Enzymen.

c) Geschichte des histochemischen Nachweises und dessen Spezifität

Trotz des relativen Alters der verschiedenen Nachweismethoden sind bisher wenige kritische Arbeiten unternommen worden (Pearse 81)). 1885 beobachtete Paul Ehrlich 16) die Bildung von Indophenolblaugranula im tierischen Gewebe, wenn diese einer Lösung von 1-Naphthol und N,N-Dimethyl-p-phenylendiamin ausgesetzt wurde. Diese sogenannte Nadi-Reaktion wurde auf ein oxydierendes Enzym zurückgeführt, das als Nadi- bzw. Indophenoloxydase in die Literatur einging. Winkler 112) wandte die Nadireaktion bei alkalischem pH auf Formalin-alkohol fixierte Blutausstriche an und fand ebenso wie Schultze 96), der formalinfixierte Gefrierschnitte von tierischen Geweben untersuchte, nur in den Myelocyten eine Bildung von Indophenolblau. v.Gierke 23) konnte zeigen, daß bei Behandlung von unfixiertem frischen Gewebe mit saurer und neutraler Lösung Indophenolblaugranula in fast allen Zellen gebildet wird und führte die nach Fixierung nur noch in den Myelozyten auftretende Reaktion auf eine stabile sog. M- (von Myelon) Oxydase, und die Reaktion von frischem Gewebe auf eine labile sog. G- (von Gewebe) Oxydase zurück. Gräff 31, 32, 33) zeigte, daß in Gefrierschnitten von unfixiertem Gewebe in fast allen

Zellen eine Indophenolblaureaktion stattfindet, die nach Formalinbehandlung ausbleibt. Er empfahl die Bezeichnungen G- Nadireaktion bzw. M-Nadireaktion. Keilin und Hartree 55, 56, 57) zeigten dann auch, daß die G-Nadireaktion der Aktivität des Cytochrom c-Cytochromoxydase Systems zuzuschreiben ist. (Unabhängig hiervon beschrieb Warburg 1o9) ein "Atmungsferment", das eine wichtige Rolle in der Zellatmung spielt.) Von Keilin und Hartree 55) wissen wir, daß die Nadireaktion folgendermaßen abläuft:

alpha-Naphthol + N,N-Dimethyl-p-phenylendiamin
+ 4 Cytochrom c
spontan → Indophenolblau + 4 reduzierte Cytochrom c.



4 reduzierte Cytochrom c + O_2 $\xrightarrow{\text{Cytochromoxydase}}$ 4 Cytochrom c + H_2O

Alpha-Naphthol reagiert hierbei als mildes Reduktionsmittel und die Wirkung von Cytochromoxydase kann demonstriert werden, indem das gewöhnlich reduzierende System (Dehydrogenasen) durch ein mildes Reduktionsmittel ersetzt wird, das als Elektronendonator fungiert, um Cytochrom c zu reduzieren.

Beispiele hierfür sind p-Phenylendiamin oder Hydrochinon. Folglich kann die Aktivität der Cytochromoxydase durch Nachweis der Oxydation dieser Komponenten erfaßt werden.

Da die sog. Indophenoloxydase die sog. Nadireaktion als auch die Oxydation von reduziertem Cytochrom c katalysiert, und sich andererseits zeigte, daß Cytochromoxydase in der Nadireaktion Indophenolblau bilden kann, ergab sich die Folgerung, daß Indophenoloxydase, sowie das Atmungsferment und Cytochromoxydase ein und dasselbe Enzym seien und daß die Nadireaktion die Gegenwart von Cytochromoxydase und deren reduziertes Substrat, reduziertes Cytochrom c, nachweist (Keilin und Hartree 55). Borei und Björklund 7) beobachteten, daß die Oxydation von Dimethyl-p-phenylendiamin durch das Cytochromsystem bei Zusatz von Cytochrom c nur gering anstieg. Sie vermuteten, daß das in ihren Präparaten vorhandene Cytochrom c wohl kaum für das beobachtete Ausmaß der Oxydation ausreichend sein konnte und nahmen an, daß das Substrat direkt von der Oxydase angegriffen werden kann.

Da Indophenolblau von Dimethyl-p-phenylendiamin und Naphthol auch in Abwesenheit von O_2 gebildet werden kann, blieb die Frage der Spezifität. Es zeigte sich aber, daß Oxydation an der Luft sehr langsam eintritt. Da Ähnlichkeiten zwischen den Niederschlägen bei der Nadireaktion und der Anfärbung von Lipiden beschrieben wurden (Hollande 42), wurde die Annahme geäußert, daß das entstandene fettlösliche Indophenolblau die Lipoidgranula anfärbe und so die Granulalokalisation in den Zellen verursache, während die Reaktion in Abwesenheit der Granula diffus und unter dem Mikroskop unsichtbar verliefe. Prenant 86) und spätere Untersucher (Hogeboom, Schneider, Pallade 41) stimmten darin

überein, daß die Oxydasen nicht diffus seien, sondern Granulationen zugehörig, die in Größe und Charakter Mitochondrien entsprechen.

Zur Klärung der Frage der Spezifität der Reaktion unternahm Moog 64) Versuche mit spez. Hemmstoffen und erreichte mit einer 0,005 mol. Konz. von NaN_3, Na_2S oder KCN sowohl bei pH 5,8, als auch bei pH 7,2 eine vollständige Hemmung durch Blockierung des dreiwertigen Eisens der Cytochromoxydase. Die gefärbten Oxydationsprodukte der Nadireaktion, die Indophenolblaugranula, sind nicht stabil, sondern werden innerhalb kurzer Zeit (Tagen) zu farblosen Substanzen reduziert, wenn das reduzierende System der Zelle noch in Takt ist.

Moog 64) versuchte durch Phenylurethan das reduzierende System zu blockieren, blieb aber erfolglos. 1958 ersetzten Nachlas, Crawford, Goldstein und Seligman 73) das Dimethyl-p-phenylendiamin durch eine neue Verbindung 4-Amino-N,N-Dimethylnaphthylamin (ADN). Als Reaktionsprodukte bilden sich kleine Indophenolpurpurgranula mit schöner intrazellulärer Lokalisation (intramitochondrialer Lokalisation). Wenn auch die Geschwindigkeit der Pigmentbildung geringer ist (Barka 6)), ergibt sich histochemisch doch ein befriedigenderes Ergebnis. Die Autoxydation ist geringer, es wird keine Kristallisation mehr beobachtet, und vor allem sind die Pigmente für eine wesentlich längere Zeit stabil. Lediglich Nachfixierung in Formalin führt zur Abblassung.

Ähnliche Ergebnisse erzielte Burstone 8) mit dem von ihm empfohlenen Substrat N-phenyl-p-phenylendiamin und 9) mit einer Mischung dieses Substrates mit p-methoxy-p-aminodi-phenylamin.

IV. Über Adenosintriphosphatasen (ATPasen)

a) Eigenschaften und Funktion

ATPasen gehören zu den sog. Polyphosphatasen, worunter man Enzyme versteht, die die Fähigkeit zur Aufspaltung der Pyrophosphatbindung besitzen. Man unterscheidet zwischen ATPasen, die endständiges Orthophosphat aus ATP oder auch aus ITP abspalten, und der sog. Apyrase, die die beiden endständigen Pyrophosphatbindungen abspaltet. Allerdings sind die Triphosphatasen von cyclischen Basen außerordentlich energiereich, so daß es dementsprechend oft auch zur spontanen Hydrolyse kommt (Kaplan 52)). Im Gegensatz zu den unspezifischen Phosphatasen, die jeweils zahlreiche Phosphorsäureester hydrolysieren, da für sie nur die Phosphorsäureestergruppe spezifisch ist, nicht aber übrige Anteile des Moleküls, ist die ATPase als spezifische Phosphatase zu bezeichnen. Für ihr Wirksamwerden spielen außer der Phosphorsäuregruppe auch noch andere Molekülgruppen eine Rolle.

Es ist wahrscheinlich, daß ATPase eine dem Eiweiß des Myosins ähnliche Struktur hat, oder daß es mit ihm leicht eine sehr stabile Verbindung eingeht, denn es gelingt Myosin weitgehend frei von ATPase zu gewinnen und umgekehrt.

ATPase wird im allgemeinen als unlöslich angesehen. PH-Optimum, sowie Reaktion auf Aktivatoren und Inhibitoren hängen von der Herkunft des Enzyms ab:

Herkunft	pH-Optimum	aktiviert	gehemmt
Myosin-ATPase	9 oder höher	Ca	Mg
Sarkosomen in Muskelfasern (Mitochondrien-ATPase)	7	Mg	Ca
ATPase in Mitochondrien anderer tier.Organe	alkal.	Mg	((Ca))

n.Graumann und Neumann 36) S. 146

ATPasen scheinen SH-Enzyme zu sein. Sie werden durch SH-Reagentien gehemmt (Padykula und Herman 79)), deren Wirkung wiederum durch SH-gruppentragende Verbindungen aufgehoben werden. Ferner tritt Hemmung durch Fluorionen ein, wie bei den meisten Phosphatasen mit Ausnahme der unspez. alkalischen (Metallsalzbildung mit den aktivierenden Mg-ionen) (Graumann und Neumann 36)).

Außer der hydrolytischen Abspaltung der endständigen Phosphatgruppe scheint die ATP-ase maßgeblich am Ionentransport durch die Zellmembran beteiligt zu sein. Järnefeld 46) beschrieb eine ATP-ase, deren Wirkungsoptimum in Gegenwart von Mg^{++}, Na^{+} und K^{+} liegt und die bei der Nervenfunktion eine wesentliche Rolle spielt. Der genaue Reaktionsmechanismus der ATP-ase beim Ionentransport ist jedoch nicht völlig geklärt. Die beobachtete ATP-Spaltungsaktivität stellt einen komplexen Prozeß dar, der nicht nur mit dem Transport, sondern auch mit der Kontraktion und Entspannung der Myofibrillen, Mitochondrien und möglicherweise mit dem Membransystem schlechthin in Verbindung steht (Reid 89)).

b) Vorkommen

ATP-ase kommt vor in Muskelfibrillen (Myosin-ATP-ase), in Mitochondrien sämtlicher Zellen, Erythrocyten und Schlangengiften (Graumann und Neumann 36)). Die üblicherweise gewonnenen Myosinpräparate zeigen hohe ATP-aseaktivität. In intakten Mitochondrien ist die Aktivität im allgemeinen latent, steigt aber mächtig an, wenn die Mitochondrien zerstört werden. Trotz der Schwierigkeit festzustellen, welche Hydrolasen tatsächlich echte Mitochondrienhydrolasen sind, gilt als sicher, daß ATP-ase das fundamentale Mitochondrienenzym

ist (Roodyn 9o)). ATPase wurde ferner in verschiedenen Membranfraktionen nachgewiesen, so in Fraktionen von Leberparenchymzellen [redacted] speziell in periportalen Zellen), Blutgefäßwänden, Galleepithelien, Nierentubuluszellen , der Milz, Leucocyten (Reid 89)), sowie in den Seitenmembranen und Interzellulärräumen von Corneaepithelien (Straus 1o2)).

In den Kernen aller Zellen findet sich ATP-ase in geringerer Konzentration (nur etwa 1/4 bis 1/8). Noch weniger ist in den Mikrosomen enthalten (Lang und Siebert 58)).

c) Geschichte des histochemischen Nachweises und dessen Spezifität

Glick und Fischer 25, 26), Gomorri 29),Newman, Feigin et al 76), Ross und Ely 91) untersuchten ATP als Substrat bei pH9 und 5 in fixiertem und eingebettetem Gewebe. Moog und Steinbach 65) zeigten, daß alkalische Phosphatase ATP zu hydrolysieren vermag und meinten, daß Glick und Fischer nur dieses Enzym nachgewiesen hätten. Dafür sprach auch der Nachweis Novikoff's 77), daß spezifische ATPase unter den genannten Bedingungen zerstört wird. Antonini und Weber 2) untersuchten in kaltem Aceton fixiertes Gewebe, ohne zu überprüfen, ob ATAase diese Behandlung übersteht. Maengwyn-Davis et al. 6o) verwendeten frische Gefrierschnitte und Na-Acetat im Inkubationsmedium. Sie fanden unter Verwendung verschiedener Aktivatoren und Hemmstoffen, daß ATP bei pH 8,5 durch ein SH-abhängiges Enzym dephosphoryliert wurde. (Singer und Baron 1oo) hatten nachgewiesen, daß ATPase des Skelettmuskels SH-Gruppen zur Aktivität benötigt.)

Naidoo und Pratt 74, 75) Pratt 84, 85) untersuchten in Paraffin eingebettete, gefriergetrocknete Gewebeschnitte

bei pH 6,5 mit Blei als präzipitierendem Metallion.

Padykula und Herman 8o) untersuchten frische Gefrierschnitte bei pH 9,4 und Ca-Ionen. Sie fanden eine wesentlich höhere Aktivität als Maengwyn-Davis, was sie auf die niedrigere Salz- und Substratkonzentration zurückführten. Bei Verwendung von Aktivatoren und Hemmstoffen fanden sie, daß 2,3-dimercapto-1-propanol (BAL) in 5X $1o^{-3}$ mol. Konzentration die alkalische Phosphatase hemmt. Albers 1) und Hoffman Ostenhof et al. 4o) hatten die Hemmung der alkalischen Phosphatase durch SH-Gruppen beschrieben. Padykula und Herman fanden, daß insgesamt drei Fermente in der Lage sind, von ATP endständiges Phosphat abzuspalten. 1. die eigentliche ATP-ase, ein SH-abhängiges Ferment, 2. unspezifische alkalische Phosphatase (hemmbar durch SH-Verbindungen (BAL), 3. ein drittes unbekanntes, vorwiegend in glatter (Gefäß-) Muskulatur vorhandenes, nicht durch BAL hemmbares Enzym.

Wachstein und Meisel 1o4) entwickelten eine Bleisalzmethode, die ATP-ase bei einem physiologischen pH von 7,2 nachwies. Novikoff et al. 78) zeigte, daß bei diesem pH sowohl die durch Ca^{++}, als auch die durch Mg^{++} aktivierte ATP-ase etwa 5o % ihres Maximums erreicht, welches etwa bei pH 9,2 liegt. Die Aktivität der alkalischen Phosphatase sei hierbei so gering, daß sie vernachlässigt werden könnte.

V. Eigene Untersuchungen

a) Vorversuche

b) Hauptversuche

Material und Methode

Statistische Auswertung der Ergebnisse
Ergebnisse im Einzelnen

A. Makroskopisch

B. Mikroskopisch

1. HE-Färbung
   a) Herz
   b) Niere

2. Cytochromoxydaseaktivität
   a) Herz
   b) Niere

3. Adenosintriphosphataseaktivität
   a) Herz
   b) Niere

a) Vorversuche:

Nach Einarbeitung in histochemische Methoden, wurden zur Gewinnung eines Einblickes über die Dauer der postmortalen Nachweisbarkeit verschiedener Fermente 18 Albinoratten zu verschiedenen Zeitpunkten getötet und verschieden lange der Fäulnis ausgesetzt (bis zu 18 Tagen). Hierbei zeigten sich keine einheitlichen Ergebnisse, die etwa eine Aussage über die Beziehung zwischen Abnahme der Fermentaktivität und Dauer der Fäulnis zugelassen hätten, was durch die Heterogenität des Materials und der Fäulnisbedingungen (Temperatur, relat. Luftfeuchtigkeit, Madenbefall) hinreichend erklärt ist.

Die Bedeutung dieser Bedingungen für eine Aussage über einen eventuellen Zeitpunkt des Todeseintrittes war offensichtlich, ebenso, wie die Notwendigkeit der Vereinheitlichung dieser Bedingungen zur Gewinnung einer Aussage über den Verlauf der Abnahme der Fermentnachweisbarkeit und dessen eventuelles Abweichen nach vorausgegangener Antibiotikaeinwirkung. Unter Berücksichtigung dieser Gegebenheiten wurden deshalb die nachfolgend beschriebenen Hauptversuche durchgeführt.

b) Hauptversuche:

Material und Methode

Es kamen 48 weibliche Albinoratten (Sprague-Dawley) zur Verwendung. Das durchschnittliche Gewicht betrug rund 18o g (±8 g). 24 der Tiere wurden einer Behandlung mit Rondomycin (Methacyclin) unterzogen. Diese bestand aus vier Injektionen im Abstand von 12 Stunden, wobei jeweils 8 mg/kg als ED injiziert wurden. Zwei Stunden nach der letzten Injektion wurden die Tiere durch Halsmarkzerquetschung mittels Durazange getötet. Je 2 der behandelten und unbehandelten Tiere wurden sofort seziert und die Organe für histochemische Untersuchungen entnommen. Die restlichen Tiere wurden in einem Kellerraum gelagert. Dort betrug die durchschnittliche Temperatur 11° C. Die relative Luftfeuchtigkeit lag recht konstant bei 55 % (±5%). Es kamen nach 1/2, 1 1/2, 2 1/2, 3 1/2, 4 1/2, 5 1/2, 6 1/2, 9 1/2, 11 1/2 und 13 1/2 Tagen postmortaler Lagerzeit je zwei behandelte und unbehandelte Tiere zur Untersuchung.

Die Tiere wurden nach äußerer Besichtigung seziert, Herz und Nieren entnommen, jeweils halbiert und in Kohlensäureschnee eingefroren. Von jeder Organprobe wurden 25ubzw. 15 u dicke Schnitte angefertigt und nach der un-

ten angegebenen Methode inkubiert und anschließend eingedeckt. Danach erfolgte eine verschlüsselte Beschriftung der Präparate durch eine Hilfsperson. Die mikroskopische Auswertung, wobei die Anfärbung bzw. die Dichte der Niederschläge in den einzelnen Schnitten beurteilt wurde, erfolgte durch zwei etwa gleich geübte Untersucher unabhängig voneinander. Hierbei lag eine siebenstufige Bewertung zugrunde, wobei "1" das völlige Freibleiben des Gewebes von Anfärbung und Niederschlägen und "7" die massivste Anfärbung bzw. die größte Dichte der Niederschläge bedeutete. Von den beiden für jedes Präparat erhaltenen Zahlenwerten wurde der Mittelwert errechnet und in eine Tabelle und eine Graphik eingetragen.

ATP-ase Nachweismethode

Zum histochemischen Nachweis der ATPaseaktivität wurde die Ca-Salz-Methode nach Padykula und Hermann 8o) angewandt, die heute neben der Pb-Salz-Methode nach Wachstein und Meisel 1o4) die meist empfohlenste ist.

5 u dicke Schnitte werden bei 37° C 3omin in folgender Lösung inkubiert.

o,1 m Na-Barbituratlsg. (2,o62g/1ooml)	o,5o ml
o,18 m $CaCl_2$-Lsg (1,998g/1ooml)	o,25 ml
ATP (Na_2-Salz) (76mg/15ml)	o,75 ml
BAL ($5X1o^{-3}$molar)	o,1 ml

Mit o,1 n NaOH auf pH 9,4 eingestellt und auf 2,5 ml aufgefüllt.

Danach wurden die Schnitte in 1%iger $CaCl_2$-Lsg. in dreimaligen Wechsel gewaschen. Anschließend für drei Minuten in 2 %ige $CaCl_2$-Lsg. gebracht und dann in dreimaligen Wechsel in Aqua dest. gespült. Für eine Minute in 1%iges Ammoniumsulfid gestellt und dann unter der Wasserleitung gründlich abgespült. Nach der Trocknung in Glycerin-Gelatine eingedeckt.

Es wurden unfixierte Gefrierschnitte verwendet. Auf eine Fixierung wurde verzichtet, da im wesentlichen die Frage der Aktivität überhaupt und weniger die Frage der Lokalisation interessierte, zumal bei längerem Faulen sich die Gewebestrukturen auflösen und eine Lokalisierung mehr oder weniger nicht mehr zulassen. Andererseits bewirkt die Fixierung in Formol-Ca bei $4^{o}C$ 8o-9o% Verlust der Enzymaktivität (Novikoff et al 78). Hinzu kommt, daß sich mit den histochemischen Methoden ohnehin nur 2o % der unter optimalen Bedingungen biochemisch ermittelten Aktivitäten (Novikoff et al 78) nachweisen lassen.

Diese reduzierten geringen Aktivitätsmengen (etwa 5% der insgesamt vorhandenen) ermöglichen zwar Aufschluß über die Lokalisationen des Fermentes zu geben, lassen aber eine weitere gutverfolgbare stufenweise Abnahme nicht zu.

Nachweismethode

Cytochromoxydase

Zum Nachweis der Cytochromoxydaseaktivität diente die folgende Methode nach Nachlasse, Crawford, Globstein, Selgman 73). Die zu untersuchenden Organe (Herz, Niere) wurden unfixiert sofort nach Entnahme in Kohlensäureschnee eingefroren, sodann im Kryostat nach Pearse 15 u dicke Schnitte hergestellt, auf Deckgläschen aufgenommen und für 3o min bei Raumtemperatur in folgende Inkubationsmedium gebracht:

o,1 m Phosphatpuffer pH 7,4		12 ml
Naphthol	(1mg/ml)	16 ml
Catalase	(3omg/ml)	4 ml

(In den Leerwert KCN 2X $1o^{-2}$m)

Kurz vor der Inkubation wurde als Substrat N,N-Dimethyl-p-phenylendiamin-dihydrochlorid (p-Amino-dimethylanilin ·2 HCl)
16 ml zugegeben.

Dieses "klassische" Substrat wurde dem von Nachlas et al. angegebenen 4-Amino-1- N-dimethylnaphthylamin (ADN) vorgezogen, da letzteres nicht selbst hergestellt werden konnte. So wurde ein einfacher und brauchbarer Weg beschritten, der aber auch die Nachteile der älteren Methoden mit diesem Substrat zeigte: Die Instabilität und Abblassung der blauen Reaktionsprodukte (bereits nach Tagen), sowie deren Grobkörnigkeit.

Eine Fixierung konnte nicht vorgenommen werden, da diese zum Erlöschen der Enzymtätigkeit führt.

Statistische Auswertung der Ergebnisse

Die Ergebnisse der mikroskopischen Auswertung wurden einer hierarchischen Varianzanalyse unterzogen.

Hierbei kann ein Beobachtungsmaterial aus k Gruppen bestehen, von denen jede aus einer Anzahl von Untergruppen zusammengesetzt sein möge. Die Anzahl der Untergruppen kann für jede Hauptgruppe verschieden groß sein. Die i Hauptgruppen können r_i Untergruppen umfassen. Jede Untergruppe kann aus n_{ij} Beobachtungen bestehen.

Gruppe i k	1	2	i	k
Untergruppe j r_i	1 2..j..	1 2..j..	1 2...j...r_i	1 2..j..
Beobachtungswerte Anzahl der Beobachtungen je Untergr.	n_{11} n_{12} n_{1j}..	n_{21} n_{22} n_{2j}..	$\overset{x_{i11}}{\vdots}\overset{x_{i21}}{\vdots}\overset{x_{ij1}}{\vdots}\overset{x_{ir_i1}}{\vdots}$ $\dot{n}_{i1}$ $\dot{n}_{i2}$ ..$\dot{n}_{ij}$..$\dot{n}_{ir_i}$	n_{k1} n_{k2}.. n_{kj}
Summen	S_{11} S_{12} S_{1j}..	S_{21} S_{22} S_{2j}..	S_{i1} S_{i2}..S_{ij}	S_{k1} S_{k2}..S_{kj}..
Summen je Hauptgruppe	S_1	S_2	S_i	$S_k = \sum_i S_{kj}$ $= \sum_i \sum_j (\Sigma x_{ijl})$
Anzahl der Beobachtungen je Hauptgruppe	n_1	n_2	n_i	n_k

Es lassen sich folgende Unterschiede nach folgendem Schema errechnen:

Tafel der Varianzanalyse

Variationsursache	SAQ	FG	MQ
zwischen Hauptgruppen	$\sum\left(\frac{Si}{ni}\right)^2 - \frac{S^2}{N}$	K-1	M_2
zwischen Untergruppen innerhalb der Hauptgr.	$\sum\left(\frac{S_{ij}{}^2}{n_{ij}}\right) - \sum\left(\frac{S_i{}^2}{n_i}\right)$	R-K	M_1
Innerhalb Untergruppen (Individuen)	$\sum_{ijI} x^2_{ijI} - \sum\left(\frac{Sij^2}{n_{ij}}\right)$	N-R	M_o
Insgesamt	$\sum_{ijI} x^2_{ijI} - \frac{S^2}{N}$	N-1	--

(Weber 11o) S. 187)

Da es sich um ein reines Fixed Factor Model handelt, wurden die mittleren Abweichungsquadrate zwischen den Behandlungsgruppen und die mittleren Abweichungsquadrate zwischen den Zeitintervallen derselben Gruppe im F-Test mit der Reststreuung (Streuung innerhalb der Zeiten) verglichen. Hierbei ergab sich, daß der Unterschied zwischen den behandelten und unbehandelten Tieren (gemessen nach der Stärke der Anfärbung bzw. Dichte der Niederschläge) für ATPase im Herzmuskel statistisch auffällig (Irrtumswahrscheinlichkeit zwischen 5 und 1 %), und für ATPase in der Niere, sowie für Cytochromoxydase in Herz und Niere statistisch gesichert (Irrtumswahrscheinlichkeit $\perp$ %) war.

Der Unterschied zwischen den Zeiten war wie zu erwarten für beide Fermente in beiden Organen gesichert.

Ergebnisse im Einzelnen:

Der F-Wert für ATP-ase	Herz betrug	9,2o77
für ATP-ase	Niere	13,17o4
für Cytochromoxydase	Herz	2o,9364
und Cytochromoxydase	Niere	34,484o

Der Grenzwert für "statistisch auffällig" F=5% ist für 1 u. 9 Freiheitsgrade 5,12.

Der Grenzwert für "statistisch gesichert" F=1% ist für 1 und 9 Freiheitsgrade 1o,56.

Für die Beratung und die Mithilfe bei Durchführung der statistischen Berechnungen möchte ich Herrn Dr. Faßl vom Institut für Statistik und Dokumentation der Universität Mainz meinen ergebensten Dank sagen.

Die Ergebnisse im Einzelnen

A) Makroskopisch

B) Mikroskopisch

1. HE-Färbung
   a) Herz
   b) Niere

2. Cytochromoxydaseaktivität
   a) Herz
   b) Niere

3. Adenosintriphosphataseaktivität
   a) Herz
   b) Niere

A) Makroskopisch

Makroskopisch zeigten sich zwischen behandelten und unbehandelten Tieren ab vierten Tag der Lagerung Unterschiede im Grad der Fäulnis in der Art, daß die unbehandelten fast alle zum Zeitpunkt der jeweiligen Untersuchung eine deutlich stärkere Auftreibung des Leibes, sowie einen schlechteren Zustand des Felles aufwiesen. Beim Eröffnen der Tiere war bei den behandelten eine hellere Farbe des Bauchfelles, sowie ein geringerer (mitunter fehlender) Fäulnisgeruch und eine festere Konsistenz und frischere Farbe der inneren Organe auffällig. Die geschilderten Unterschiede wurden gegen Ende der Versuche noch deutlicher.

B) Mikroskopisch

1. HE-Färbung

a) Herz

Unter Berücksichtigung der Abweichungen in den einzelnen Organproben bei den behandelten und den unbehandelten Tieren ergibt sich zusammenfassend, daß sich nach 6 1/2 Tagen Lagerung außer einem leichten, unterschiedlich starkem Nachlassen der Gewebestruktur kein auffälliger Unterschied zwischen den beiden Gruppen und gegenüber den sofort nach der Tötung untersuchten Tieren ergibt.

Unbehandelte Tiere: Nach 9 1/2 Tagen zeigten sich Kernauflösungen. Es finden sich nur noch am Rande der Muskelfasern Kerne; diese scheinen aber dem interstitiellem Bindegewebe zu entstammen. Nach längerer Lagerung zeigten sich noch weniger Kerne. Nach 11 1/2 und 13 1/2 Tagen schließlich nur noch stellenweise Kernreste. Der Gewebszusammenhang ging ebenfalls verloren.

Behandelte Tiere: Nach 9 1/2 Tagen fand sich noch ein gutes Gewebebild. Die Kerne waren noch zum großen Teil in den Faserbündeln vorhanden. Diese wichen allerdings auseinander. Nach 13 1/2 Tagen begannen die Kerne ebenfalls zu verschwinden.

b) Niere

In den Präparaten der Niere, die 12 Stunden post mortem zur Untersuchung gelangten, wurden keine auffälligen Veränderungen gegenüber den sofort nach der Tötung untersuchten beobachtet. Nach 36 Stunden jedoch ließen sich eine Abblassung und beginnende Auflösung der Zellstrukturen einiger besonders rindennaher Kanälchen beobachten. Nach 2-, 3- und 4 1/2 Tagen zeigten sich diese

Veränderungen in zunehmendem Maße. Das Ausmaß der Veränderungen war bei den einzelnen Tieren unterschiedlich, und die Kernauflösung, sowie der Strukturverlust von einzelnen Kanälchen stand nicht in genauem Einklang mit der Dauer der Autolyse bzw. Fäulnis.

Nach 5- und 6 1/2 Tagen traten Unterschiede im histologischen Bild von unbehandelten und behandelten Tieren deutlich hervor.

Unbehandelte Tiere:

Bei diesen traten Kernverlust bzw. Kernauflösung und mehr oder weniger starke Auflösung von einem Großteil der Kanälchen bereits nach 6 1/2 Tagen ein. Nach 9 1/2 bzw. 11 1/2 Tagen war die Auflösung der Zellstruktur und der Kanälchen soweit fortgeschritten, daß nur noch bruchstückhaft die Kanälchenstruktur erkennbar war, bzw. größere Gebiete sich völlig homogen anfärbten, ohne Strukturen erkennen zu lassen.

Behandelte Tiere:

Hier zeigten sich zwar ebenfalls Bezirke mit Auflösung der Struktur, aber in geringerem Ausmaß. Auch war die Auflösung der Kerne nach 6 1/2 Tagen nicht so weit fortgeschritten. Es fanden sich noch intakte Kanälchen mit Kernen, besonders im Mark. Hier trat die Kernauflösung recht spät ein (nach 9 1/2 Tagen). Danach schien es zu besonders schneller Zellauflösung zu kommen. Nach 11 1/2 bzw. 13 1/2 Tagen trat ebenfalls Kernauflösung bis zu völligem -verlust ein, die Kanälchenstrukturen waren aber noch gut wahrzunehmen.

2. Cytochromoxydaseaktivität

a) Herz

Bei den sofort nach der Tötung untersuchten Tieren zeigten sich im unfixierten Gefrierschnitt viele kleine Granula dichtgedrängt im Verlaufe der Muskelfasern, sowie eine diffuse Blautönung des Grundgewebes. Stellenweise blieb ein kleiner freier Spalt in Querrichtung zum Faserverlauf. Dieses Bild bot sich bei den behandelten und unbehandelten Tieren in etwa gleichem Ausmaß auch noch nach 36 Stunden. Danach war eine Abnahme der Menge der Granula wahrnehmbar, ohne deutliche Unterscheidung der beiden Tiergruppen, da die einzelnen Präparate der Gruppen untereinander nicht völlig gleich waren.

Die Veränderungen im Laufe der Lagerung zeigten eine allgemeine Verminderung der Granula, sowie eine flächenhafte Reaktionsabnahme. Durch die Rarefizierung der Granula wurde deren Längsanordnung in den Muskelfasern deutlicher. Im weiteren Verlauf der Autolyse bot sich nur noch vereinzelt Granula und eine schwache Blautönung des Gewebes, bis auch diese ganz ausblieb und nur noch das blasse ungefärbte Gewebe verblieb.

Auffällig war, daß das Verschwinden der histochemischen Nachweisbarkeit der Cytochromoxydaseaktivität schneller ging, als der Gewebezerfall im Zuge der Autolyse.

Die unbehandelten Tiere zeigten nach 9 1/2 Tagen eine deutliche Verminderung der Anfärbung bzw. der Dichte der Granula. Nach 11 1/2 Tagen zeigten nur noch einige der Präparate schwache Anfärbung und äußerst spärlich Granula.

Nach 13 1/2 Tagen waren überhaupt keine Reaktionen mehr wahrzunehmen.

Die behandelten Tiere zeigten nach 9 1/2 Tagen deutlich stärkere Anfärbung und Dichte der Granula, nach 11 1/2 Tagen eine Verminderung, nach 13 1/2 Tagen aber immer noch Anfärbung des Gewebes und vereinzelt Niederschläge.

b) Niere

Im unfixierten Gefrierschnitt der Niere der sofort nach Tötung untersuchten Tiere hoben sich die Glomerula ganz hell gegenüber den mit blauen Granula übersäten Tubuli ab. Aufgrund verschiedener Stärke der Ausfälle ließ sich keine sichere Differenzierung der Haupt- und Schaltstükke treffen. Sie zeigten meist ein von Niederschlägen freies Lumen. Im Mark zeigten die dünnen Henle'schleifen sehr starke Ausfälle. Ihr Lumen war völlig verdeckt. Die Sammelrohre wiesen ein deutliches Lumen auf, und die Ausfälle lagen vorwiegend im Cytoplasma. Hier sowohl als auch in der Rinde lagen außerhalb der Kanälchen ebenfalls Ausfälle, so daß sich die Kanälchen zwar deutlich, aber nicht ganz scharf gegeneinander abgrenzten.

Während sich nach 3 1/2 tägiger Lagerung kein auffälliger Unterschied zwischen be- und unbehandelten Tieren und gegenüber den "Frischtieren" ergab, war ein solcher nach 5 1/2 Tagen deutlich wahrnehmbar.

Die unbehandelten Tiere wiesen eine stärkere Verminderung der Granulamenge auf. Relativ starke Aktivitätsnachweise fanden sich in der Rinde, sowie den dünnen Henle'schen Schleifen, während die Sammelrohre recht schwach positiv waren und sich ihr histologisches Bild sehr verschlechterte. Nach 6 1/2 Tagen waren die äußeren Rindenzonen hitologisch aufgelöst und ohne Aktivität. In den angrenzenden Gebieten fanden sich Niederschläge unterschiedlichen Ausmaßes.
Nach 9 1/2 Tagen zeigten sich ausgedehnte helle Areale ohne Niederschläge. Hier fanden sich die Gewebsstrukturen in Auflösung.

Nach 11 1/2 Tagen war die Nierenstruktur nicht mehr zu erkennen. Wo sich an einzelnen Stellen noch Anfärbung zeigte, waren die Niederschläge diffus über kleine Bezirke ausgestreut, ohne eine Zugehörigkeit erkennen zu lassen.
Nach 13 1/2 Tagen waren die Kanälchenstrukturen weder in der äußeren Rinde, noch im Mark zu erkennen; lediglich in der mittleren Rindenzone. Es fanden sich weder Niederschläge, noch Anfärbung.

Behandelte Tiere: Nach 5 1/2 Tagen waren eine unterschiedlich starke Anfärbung und eine nicht ganz so ausgeprägte Rarefizierung der Granula, sowie eine relativ gut erhaltene Struktur zu verzeichnen.

Nach 6 1/2 Tagen zeigte sich ebenfalls keine Aktivität in den äußersten Rindengebieten. Im angrenzenden Bereich lagen vereinzelt Ausfälle vor.

Nach 9 1/2 Tagen fanden sich Stellen mit Strukturverlust. Meist war aber die Struktur noch deutlich wahrnehmbar und angefärbt, sowie mit Niederschlägen versehen.
Nach 11 1/2 Tagen zeigten sich in den Rinden Aktivitäten unterschiedlicher Stärke, auch in den dünnen Henle' Schleifen, während sie in den Sammelrohren nur noch angedeutet waren. Nach 13 1/2 Tagen war noch eine sehr gut wahrnehmbare Struktur vorhanden, abgesehen von den äußersten Rindenzonen, ferner eine Anfärbung, sowie spärliche Niederschläge in den mittleren Rindenzonen und den dünnen Henle'Schleifen. Die Sammelrohre waren blass angefärbt.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß die histochemisch nachweisbare Aktivität mit dem Auflösen der Struktur abnimmt, um schließlich ganz zu verschwinden. Diese Vorgänge laufen bei den behandelten Tieren im Vergleich zu den unbehandelten deutlich verzögert ab.

3. ATP-aseaktivität

a) Herz

Bei den sofort nach der Tötung untersuchten Tieren zeigten sich im unfixierten Gefrierschnitt neben der Schwarzbraunfärbung der Gefäßwände und der Kapillaren des interstitiellen Bindegewebes eine intensive Braunfärbung der Muskulatur und feine körnchenartige schwarze Niederschläge im Verlauf der Muskelfasern. Stellenweise sind die Niederschläge so stark, daß sie zu schwarzbraunen Schollen zusammen fließen, die die Muskelfasern verdecken. Nach lominütiger Fixierung in neutralem Formalin-Ca zeigte sich eine wesentlich schwächere, aber noch deutliche Braunfärbung mit Betonung der Faserstruktur. Insgesamt war das Gewebebild schärfer gezeichnet. Das interstitielle Bindegewebe und die Gefäßwände waren stark angefärbt.

Nach Zusatz von BAL (Dimerkaptopropanol) zum Inkubationsmedium, zwecks Ausschaltung der Aktivität der unspezifischen alkalischen Phosphatase, ließ sich kein auffälliger Unterschied gegenüber dem ohne BAL gewonnenen Bild erkennen.

Bis zu 36 Stunden nach der Tötung ließen sich keine Veränderungen des histochemischen Bildes beobachten. Danach wurde ein Nachlassen der Anfärbung festgestellt, sowohl bei den behandelten, als auch bei den unbehandelten Tieren, wenn auch bei den letzteren zumeist nicht so stark. Allerdings boten beide Tiergruppen nach 5 1/2 Tagen in etwa das gleiche Bild.

Unbehandelte Tiere: Nach 6 1/2 Tagen kam es zu einer vermehrten Anfärbung. Nach 7 1/2 und 9 1/2 Tagen ging die Abnahme der Aktivität weiter, wobei nochmals ein geringer Anstieg beobachtet wurde.

Behandelte Tiere: Diese boten etwas stärkere Aktivitätsnachweise, aber nur streckenweise. Am Ende der Serie boten die Schnitte der be- und der unbehandelten Tiere in etwa das gleiche Bild bei noch deutlich vorhandener, wenn auch gegenüber den "Frischtieren" stark verminderter Aktivität. Es zeigte sich die lange nachweisbare Aktivität der ATP-ase im Herzmuskel, wobei zu berücksichtigen ist, daß die Fäulnis desselben unter den gegebenen Bedingungen nach 13 1/2 Tagen auch nicht allzuweit fortgeschritten war.

b) Niere

Bei den sofort nach der Tötung untersuchten Tieren zeigte sich in den unfixierten Gefrierschnitten der Niere in den Glomerula und anderen Gefäßanschnitten, sowie den Kapillaren des interstitiellen Bindegewebes zwischen den Tubuli eine sehr starke braune bis braunschwarze Anfärbung. Im Rindengebiet zeigten die Tubuli eine diffuse braune Anfärbung ihres Zytoplasmas. Bei den ohne BAL-Zusatz inkubierten Schnitten war diese Anfärbung zum Lumen hin stark zunehmend, so daß das Lumen und die oberen Zellkuppen deutlich dunkelbraun angefärbt wurden. Es handelte sich hierbei offenbar um die Wirkung der unspezifischen alkalischen Phosphatase, die ja im Bürstensaum der proximalen Tubuli besonders stark vertreten ist. Bei den mit BAL-Zusatz inkubierten Schnitten fehlte denn auch diese Anfärbung. Zur Basis hin waren die Tubuluszellen heller, um dann nach außen durch eine tiefbraune deutliche Linie abzuschließen.

Die Anfärbungen der Tubuli waren nicht einheitlich stark. Es ließen sich stets Anschnitte dunklerer Tubuli (meist in Glomerulusnähe) neben helleren beobachten, doch eine Unterscheidung der einzelnen Abschnitte aufgrund der Anfärbung allein war nicht sicher vorzunehmen. Im Mark

fanden sich ebenfalls Kanälchen, deren Zytoplasma fast gleichmäßig dunkelbraun war. Bei ihnen handelte es sich offenbar um dünne Henlesche Schleifen.

Nach zehnminütiger Fixation in neutralem Formalin-Ca trat lediglich eine sehr blasse Anfärbung des Zytoplasmas der meisten Kanälchen ein. Die oben beschriebenen Kanälchen waren auch hier deutlich wahrnehmbar. Bei einem insgesamt schärfer gezeichneten Gewebebild zeigte sich starke Anfärbung außer in den Glomerula auch in den Außengrenzen der Tubuli.

Ob es sich hierbei ausschließlich um die bekannte Aktivität der Kapillarwände des interstitiellen Bindegewebes handelt, oder um eine spezifische Anfärbung der Basalmembranen, ließ sich nicht ersehen.

Zwölf Stunden nach der Tötung der Tiere zeigten die unfixierten Gefrierschnitte nicht mehr die klare Übersichtlichkeit der frischen Organschnitte. Ohne BAL-Zusatz beschränkte sich die Anfärbung nicht mehr auf den Lumenrand, sondern erstreckte sich mehr in das Cytoplasma. Ebenso wie mit BAL-Zusatz verlor sich die auf den basalen Zellbereich beschränkte Anfärbung und das Cytoplasma wurde diffuser angefärbt. Dennoch ließen sich die dunkleren Kanälchen von den helleren gut unterscheiden. Im Mark fanden sich runde, gleichmäßig braungefärbte Kanälchen (Henle Schleifen) neben den größeren, nur im Basalbereich angefärbten Sammelrohren.

Nach 1 1/2 Tagen bestand im wesentlichen das gleiche Bild, auch war kein auffälliger Unterschied zwischen be- und unbehandelten Tieren zu erkennen. Nach 2 1/2 Tagen ließ sich ein solcher allerdings wahrnehmen.

Unbehandelte Tiere: Nach 2 1/2 Tagen färbte sich das Cytoplasma diffuser an. Aufgrund der Anfärbung ließ sich die Struktur schlechter erkennen. Bei fortschreitender Fäulnis bot sich ein immer schlechteres Strukturbild (die Struktur war schlechter zu erkennen als im HE-gefärbten Vergleichsschnitt). Die die Tubuli nach außen abgrenzenden schwarz-braunen Abfärbungen wurden bruchstückhaft und beschränkten sich auf immer kleinere Stellen. Die Anfärbung des Cytoplasmas wurde diffuser, unregelmäßiger und heller.

Nach 9 1/2 Tagen ließen sich schwerlich, nach 13 1/2 Tagen kaum noch die Kanälchen als solche wahrnehmen, sondern das Gewebe imponierte als unregelmäßig blass angefärbte homogene Fläche, in der sich nur noch Bruchstücke der Glomerula und des interstitiellen Bindegewebes dunkelbraun hervorhoben. Das Cytoplasma erschien zart braun und körnig.

Behandelte Tiere: Hier liefen die geschilderten Veränderungen langsamer ab, so daß nach 13 1/2 Tagen die unterschiedliche Anfärbung der Kanälchen, sowie, wenn auch bruchstückhaft, deren äußere Begrenzung durch das stark angefärbte Bindegewebe noch gut zu erkennen waren. Ebenso färbte sich das Cytoplasma stärker an.

VI. Besprechung:

Eine kritische Betrachtung der Untersuchungsmethoden, vor allem ihrer Spezifität und Lokalisationsechtheit, wurde bereits in den Kapiteln III und IV angestellt. Hier sei nur auf die unterschiedlichen Ergebnisse hingewiesen, die sich bei Anwendung verschiedener Methoden des ATPasenachweises ergeben. So beschreiben Holzner und Kaufmann 43) (Meisel-Wachstein-Methode) die Aktivi-

tät der ATPase im Bürstensaum der Nierentubuli, während die Methode nach Padykula und Herman durch Anwendung von BAL (SH-Gruppen zur Hemmung der unspezifischen alkalischen Phosphatase) keine Anfärbung der Bürstensäume ergibt.

Die Lokalisation der Enzyme läßt sich histochemisch ebenfalls schwerlich sichern. Hier sind nur nach vorheriger Fixierung des Gewebes exakte Resultate zu erwarten. Dies führt aber beim ATPasenachweis zu einem Aktivitätsverlust von insgesamt ca. 85 % (Novikoff et al 78)) und Cytochromoxydase wird durch die Fixierung völlig inaktiviert.

Die Ergebnisse der durchgeführten Untersuchungen zeigten, daß sich postmortal die beiden beobachteten Fermente im Durchschnitt bei den mit Antibiotika vorbehandelten Tieren länger nachweisen ließen, als bei den unbehandelten Kontrolltieren. Wie aus den Kurven ersichtlich weichen die Ergebnisse in den einzelnen Gruppen mitunter deutlich voneinander ab, was die Unbrauchbarkeit von Einzelbeobachtungen unterstreicht. Hieraus ergibt sich aber auch, daß sich derartige Nachweismethoden in der forensischen Praxis im Einzelfalle nicht zur Bestimmung des Leichenalters verwenden lassen.

Wagner 106) zeigte, daß nach Antibiotikabehandlung die postmortalen Abbauvorgänge im Organismus verlangsamt ablaufen. Es läßt sich jedoch aus der vorliegenden Literatur nicht sicher sagen, welche der folgenden Möglichkeiten für die konservierende Wirkung verantwortlich sind: Die Reduzierung der Keimzahl im lebenden Organismus, die Hemmung des postmortal einsetzenden Keimwachstums, bzw. die Vernichtung der sich vermehrenden Mikroorganismen, seien sie nun von vornherein im Kadaver vorhanden oder später an ihn herangetreten,

eine antibiotikabedingte Beeinträchtigung der Stoffwechselleistungen der Mikroorganismen oder eine unspezifische Wirkung der Antibiotika auf die Zellbausteine, insbesondere die Fermente, so wie es Eger 3, 15) und auch Markowitz 61) annahmen.

Bei Beobachtungen der Veterinärmediziner über die Konservierung von Frischfleisch durch Antibiotikazusätze stand die Reduzierung der Keimzahlen im Vordergrund (Goldberg et al 28)). Wagner 1o6) beobachtete jedoch auch, daß nach längerer Fäulnisdauer mit Antibiotika vorbehandelte Tiere gegenüber Kontrolltieren zwar einen wesentlich besseren Erhaltungszustand aufwiesen, daß aber hinsichtlich der Keimbesiedlung kein signifikanter Unterschied bestand. Ferner sank der Aktivitätsspiegel im Gewebe post mortem unter den Resistenzgrad der Fäulniskeime ab. Wagner und Gillissen 24) konnten jedoch zeigen, daß subbakteriostatische Antibiotikakonzentrationen die H_2S-Bildung von Proteusbakterien zu hemmen vermögen, als Ausdruck des verminderten Eiweißabbaues durch die Fäulniskeime, ohne Beeinträchtigung ihrer Vermehrung. Eger 13, 14, 15) und vor ihm Fraser und Mitarbeiter 19) beobachteten bei mit Antibiotika behandelten Tieren eine deutliche Verminderung des Ausmaßes von experimentell erzeugten, sicher abakteriellen Nekrosen im Vergleich zu Kontrolltieren. Hieraus folgerte Eger, daß die Antibiotika eine stabilisierende Wirkung auf die Fermentsysteme der Zelle haben.

Auch die eigenen Untersuchungen zeigten eine längere postmortale Fermentnachweisbarkeit nach Antibiotikabehandlung, was eine Wirkungsweise im Sinne Egers vermuten läßt.

Die Einwirkungen der Antibiotika auf die Fermentsysteme der Zellen waren Gegenstand vieler Untersuchungen (Freerksen, Krüger-Thiemer, Rosenfeld 2o), Gäbert 22), Shehiko Okamoto 99). Es handelt sich hierbei allerdings ausschließlich um biochemische Arbeiten und um Bakterienfermente. Die Wirkungen auf die Enzyme des Wirtsorganismus bleiben weitgehend unberücksichtigt.

Die Wirkung der Antibiotika soll selektiv, d.h. nur gegen die Bakterienzelle, nicht aber gegen die Wirtszelle gerichtet sein. Der "chemotherapeutische Index" soll also recht groß sein. Die Grundlage der antibakteriell genannten Wirkung beruht aber bei jedem einzelnen Antibiotikum stets in der Störung der Funktion irgendeines Enzymsystems (Mosony 68)). Folglich können die Antibiotika auch auf die Funktionen der Zellen und des Interstitiums und somit auf die Funktionen der Gewebe, der einzelnen Organe, die Korrelation der Organe und dadurch auf die Funktion des gesamten Wirtsorganismus einwirken. Die Gründe der Verschiedenheit der antibiotischen Wirkung auf die Bakterienzellen und auf die Zellen des Makroorganismus beruhen vor allem auf der Verschiedenheit der Teilungsrate, der Empfindlichkeit und der Differenzierung. Der Aufbau der Einzeller ist nicht nur anatomisch, sondern auch vom Gesichtspunkt der Enzymologie einfach (Mosony 68)).

So läßt die beobachtete verlängerte Enzymnachweisbarkeit im Gewebe des Makroorganismus eine Beeinflussung des Fermentsystems des Wirtsorganismus durch eine vorausgegangene Antibiotikabehandlung annehmen.

VII. Zusammenfassung:

Es wurde nochmals auf die Schwierigkeiten der Todeszeitbestimmung und auf die mannigfachen Einflüsse, denen die Bestimmungsmethoden unterliegen, hingewiesen.

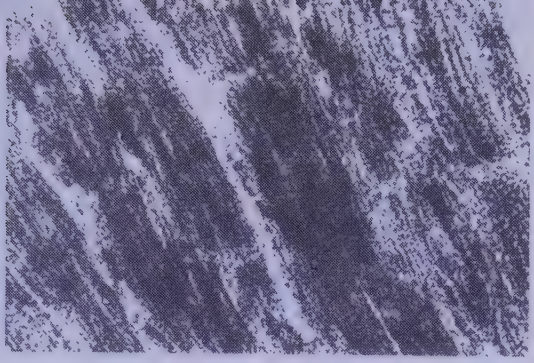
Anhand einiger Arbeiten der jüngeren Literatur über das Verhalten der ATPase und der Cytochromoxydase bei Verletzungen und Vergiftungen sowie beim Herzinfarkt wurde die nutzbringende Anwendung histochemischer Nachweismethoden in der Gerichtsmedizin und in der Pathologie aufgezeigt.

Nach der Beschreibung von Cytochromoxydase und ATPase wurde zum besseren Verständnis ihrer Nachweisreaktionen jeweils ein Überblick über deren geschichtliche Entwicklung gegeben, sowie zu ihrer Spezifität Stellung genommen.

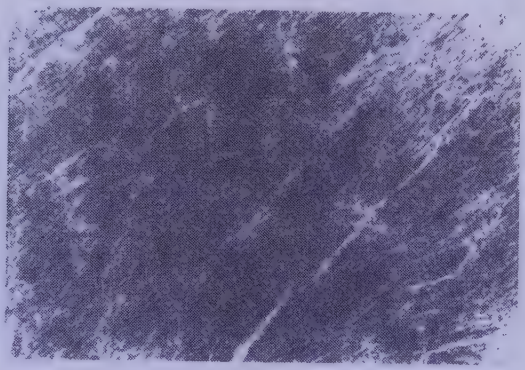
Der Einfluß des Antibiotikums Rondomycin (Tetracyclin) auf eine postmortal verlängerte Fermentnachweisbarkeit wurde experimentell an Albinoratten untersucht. Von 40 Tieren erhielten 20 jeweils 4 Injektionen (8 mg/kg Kg) im Abstand von 12 Stunden. Zwei Stunden nach der letzten Injektion wurden alle Tiere durch Halsmarkzerquetschung getötet. Jeweils zwei behandelte und zwei unbehandelte Tiere gelangten sofort und nach verschieden langen Liegezeiten in einem Kellerraum zur Untersuchung. Hierbei wurden in Herz und Nieren Cytochromoxydase und ATPase histochemisch nachgewiesen. Nach einer Verschlüsselung durch eine Hilfsperson wurden die Präparate von zwei Untersuchern mikroskopisch beurteilt. Die Ergebnisse wurden nach der Entschlüsselung einer hierarchischen Varianzanalyse unterzogen. Es zeigte sich bei den behandelten Tieren gegenüber den unbehandelten eine verlängerte Fermentnachweisbarkeit.

Der Unterschied war für die ATPase im Herzmuskel statistisch auffällig (Irrtumswahrscheinlichkeit zwischen 5 und 1 %), für ATPase in der Niere, sowie für Cytochromoxydase in Herz und Niere statistisch gesichert (Irrtumswahrscheinlichkeit unter 1 %). Der Unterschied zwischen den Zeiten war, wie zu erwarten, für beide Fermente in beiden Organen gesichert.

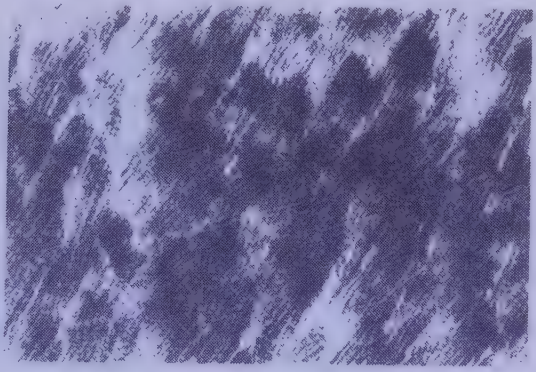
VIII. Abbildungen



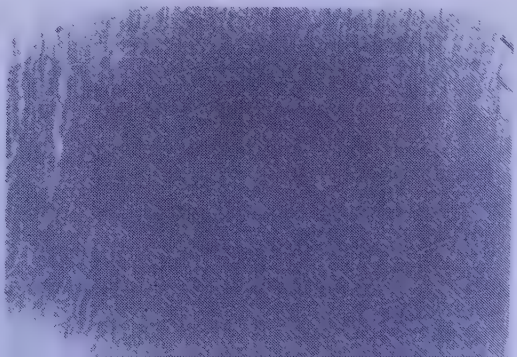
Herzmuskel Cytochromoydase
Rondomycintier 9 1/2 Tage
p.m. 384fach



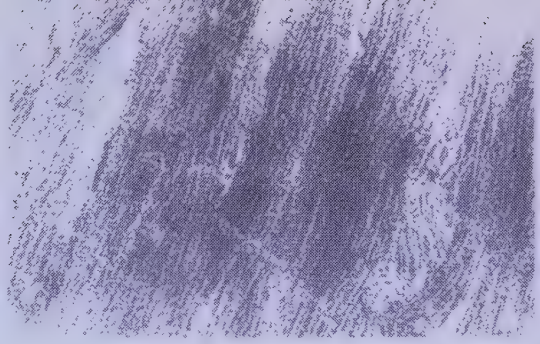
Herzmuskel Cytochromoxydase
Kontrolltier 9 1/2 Tage
p.m. 384fach



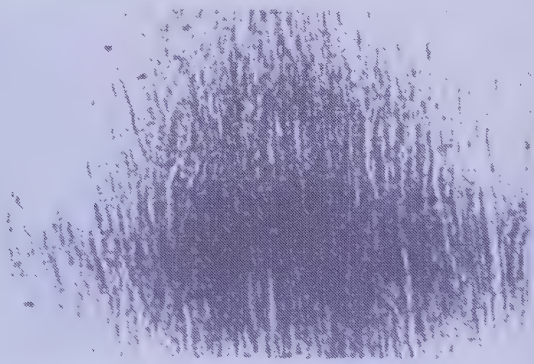
Herzmuskel Cytochromoxydase
Rondomycintier 11 1/2 Tage
p.m. 384fach



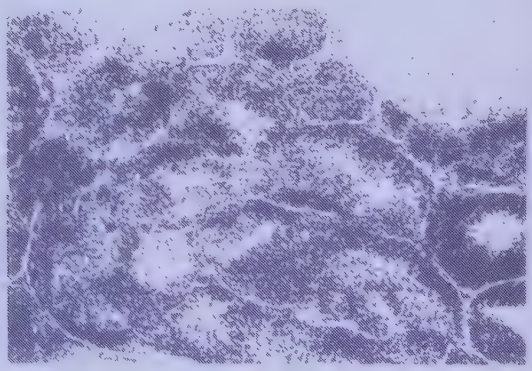
Herzmuskel Cytochromoxydase
Kontrolltier 11 1/2 Tage
p.m. 384 fach



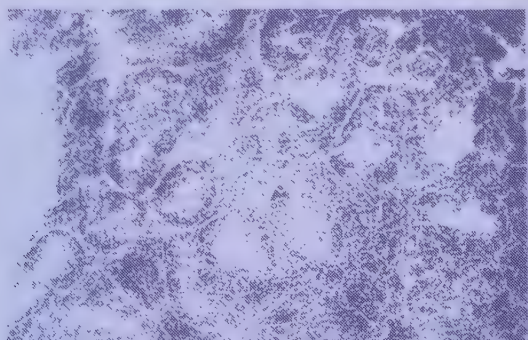
Herzmuskel Cytochromoxydase
Rondomycintier 13 1/2 Tage
p.m. 384 fach



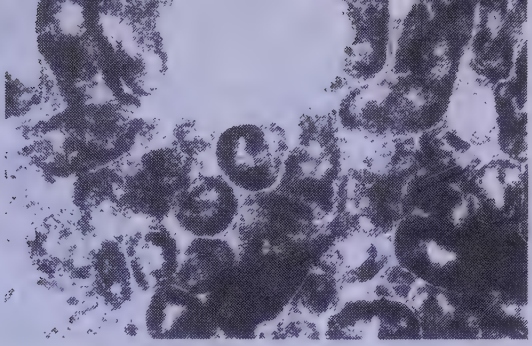
Herzmuskel Cytochromoxydase
Kontrolltier 13 1/2 Tage
p.m. 384 fach



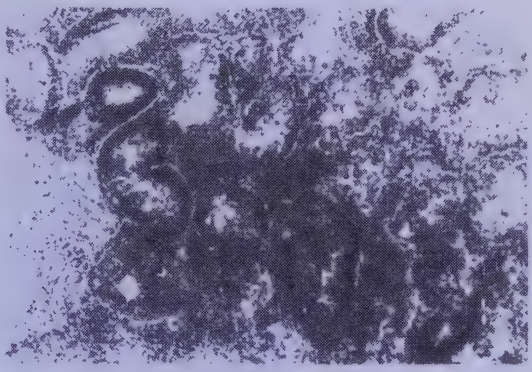
Niere Cytochromoxydase
Rondomycintier 6 1/2 Tage
p.m. 384fach



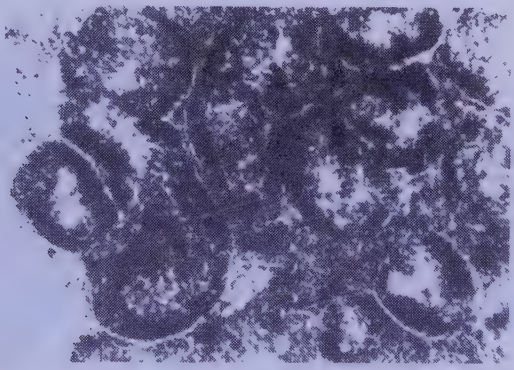
Niere Cytochromoxydase
Kontrolltier 6 1/2 Tage
p.m. 384fach



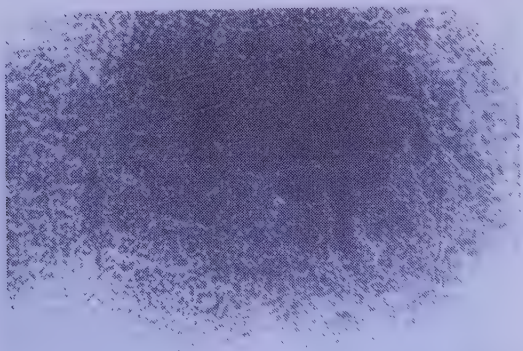
Niere Cytochromoxydase
Rondomycintier 9 1/2 Tage
p.m. 24ofach



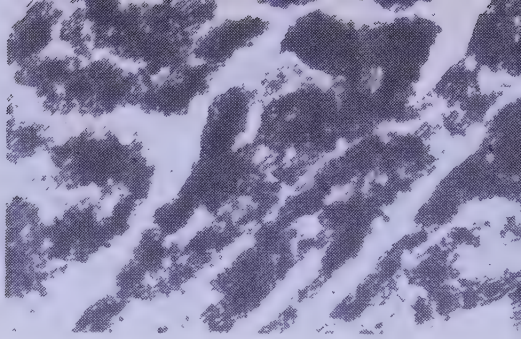
Niere Cytochromoxydase
Kontrolltier 9 1/2 Tage
p.m. 24ofach



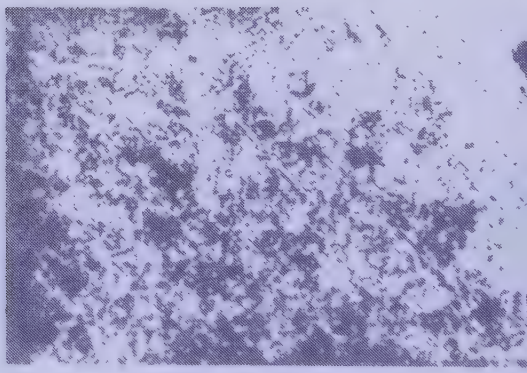
Niere Cytochromoxydase
Rondomycintier 13 1/2 Tage
p.m. 384fach



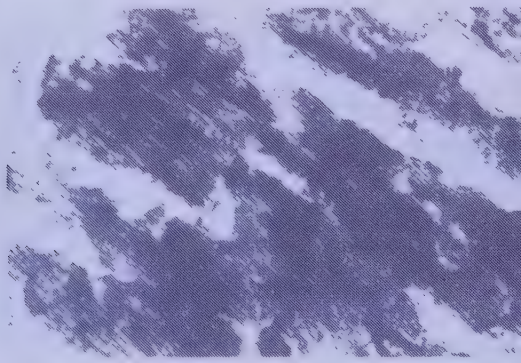
Niere Cytochromoxydase
Kontrolltier 13 1/2 Tage
p.m. 384fach



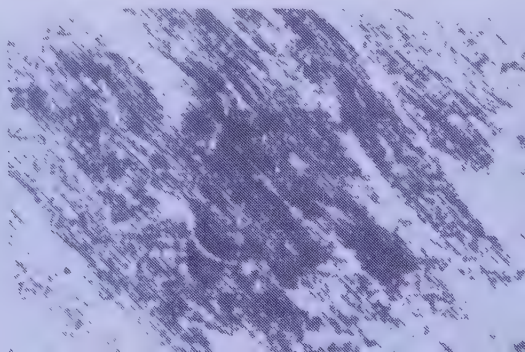
Herzmuskel ATP-ase
Rondomycintier 11 1/2 Tage
p.m. 24ofach



Herzmuskel ATP-ase
Kontrolltier 11 1/2 Tage
p.m. 24ofach

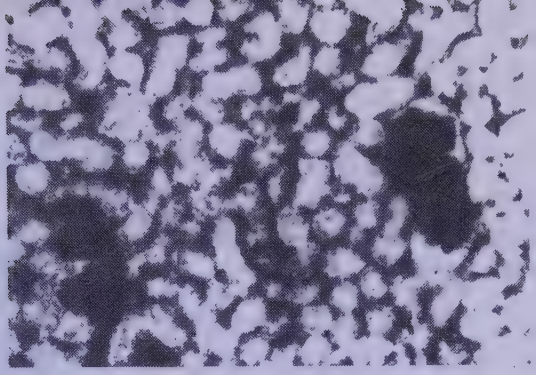


Herzmuskel ATP-ase
Rondomycintier 13 1/2 Tage
p.m. 384fach

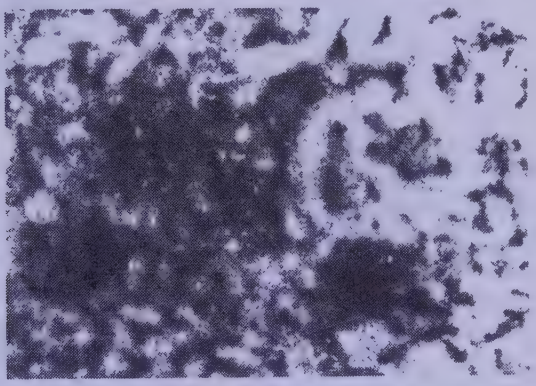


Herzmuskel ATP-ase
Kontrolltier 13 1/2 Tage
p.m. 384fach

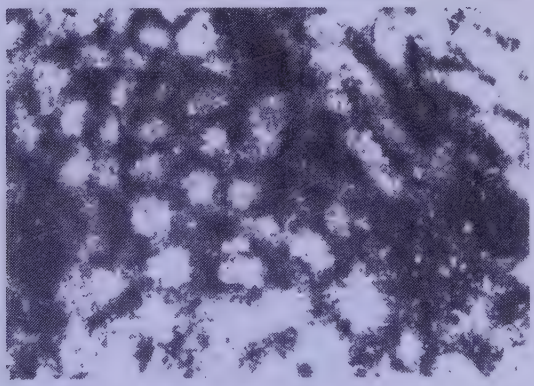
Niere ATP-ase
Rondomycintier 6 1/2 Tage
p.m. 96fach



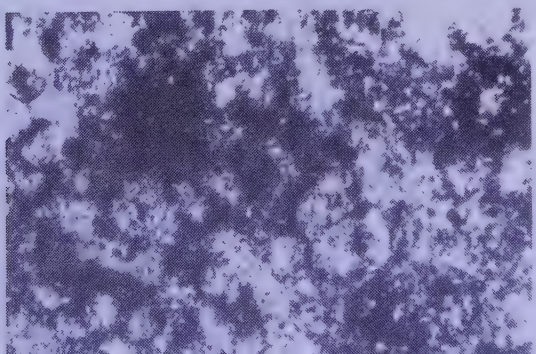
Niere ATP-ase
Kontrolltier 6 1/2 Tage
p.m. 96fach

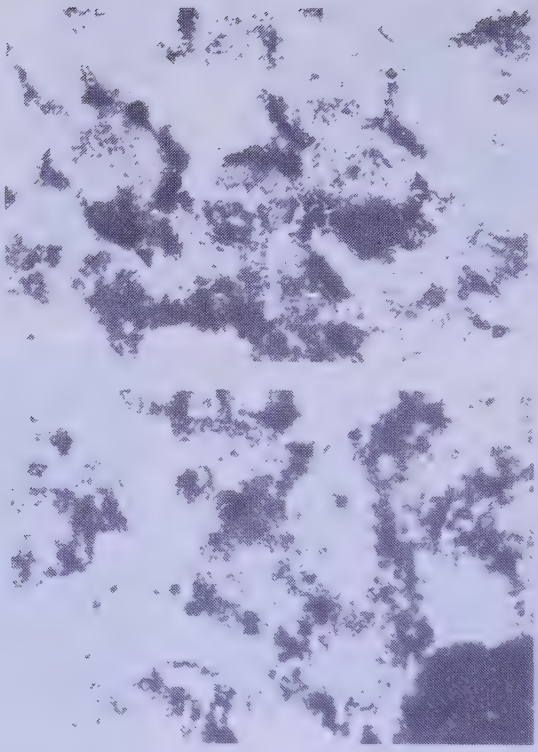


Niere ATP-ase
Rondomycintier 9 1/2 Tage
p.m. 24ofach



Niere ATP-ase
Kontrolltier 9 1/2 Tage
p.m. 24ofach

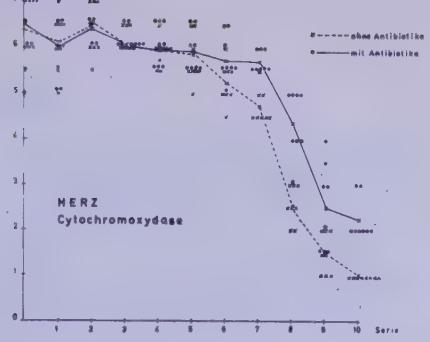


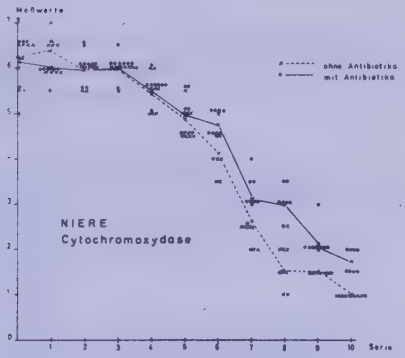


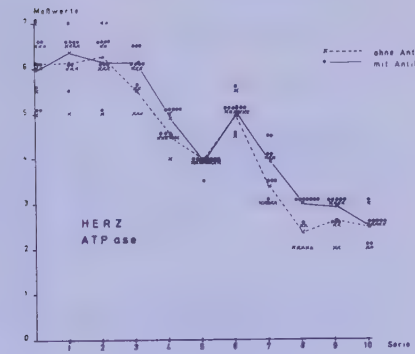
Niere ATP-ase
Rondomycintier 13 1/2 Tage
p.m. 384fach

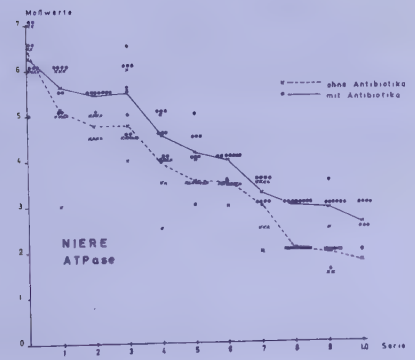
Niere ATP-ase
Kontrolltier 13 1/2 Tage
p.m. 384fach

Graphische Darstellung der mikroskopischen Auswertungsergebnisse









IX. Literaturverzeichnis

1) Albers, H. — Über die Hemmbarkeit der Phosphatasen durch Schwefelverbindungen. V.Mitteilung zur Kenntnis der Phosphatasen. Ber. d. deutsch. chem. Gesellschaft 68; 1443-7(1935)

2) Antonini, F.M. und Weber, G. — Fosfatasi specifiche (5-nucleotidas ATP-pirofosfatasi). Arch. Vecchi Anat. Pathol. Med.clin 16, 985-1012 (1951)

3) Bajusz, E. and Jasmin, G. — Histochemical Studies on the Myocardicum Following Experimental Interferende With Coronary Circulation in the Rat; Occlusion of coronary Artery. Acta Histochemica 18, 222-237 (1964)

4) Bajusz, E. and Jasmin, G. — Enzyme Histochemistry of some chemically induced cardiac necrosis I.Myocardial lesions induced by plasmocid. Vitamin-Hormon- u. Fermentforsch. 14, 28-42 (1965)

5) Bajusz, E. and Jasmin, G. — Enzyme Histochemistry of some chemically induced cardiac necrosis II. Myocardial lesions induced by methoxamine. Vitamin- Hormon- u. Fermentforsch. 14, 43-65 (1965)

6) Barka, Tibor and Paul Anderson — Histochemistry. Theory, Practice and Bibliography. New York, Evenstone and London 1963

7) Borei, H.G. and Björklund, U. — Oxidation through the cytochrom system of substituted phenylendiami Biochem. J. 54, 357-362 (1953)

8) Burstone, M.S. — New histochemical techniques for the demonstration of tissue oxidase (cytochromoxydase) J. Histochem. Cytochem. 7, 112-122 (1959)

9) Burstone, M.S. — Histochemical demonstration of cytochromoxydase with new amine reagents. J. Histochem. Cytochem. 8, 63-7o (196o)

1o) Burstone, M.S. and Miller, F.N. — Histochemical demonstration of changes in cytochromoxydase activity in human myocardial infarctiones. Am. J.clin. Path. 35, 118-21 (1961)

11) Cotutui, C. and Streja, D. — Histochemical investigations of the liver in carbon tetrachloride poisening. Acta Histochemica 3, 1-8 (1966)

12) Dannenberg, H. — Biochemie der Tumoren. In: Physiologische Chemie, hrsg. von B. Flaschenträger unter Mitwirkung von E. Lehnartz, Bd 2, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1959 S. 417

13) Eger, W. — Über Lebernekrosen und ihre Beeinflussung durch Penicillin. Ärztl. Forsch. 8, 517-522 (1954)

14) Eger, W. — Beiträge zur experimentellen Lebernekrose, zu ihrer Entstehung und ihrer Verhütung. Acta hepat. 3, 57-74 (1955)

15) Eger, W. — Zur Frage einer unspezifischen Beeinflussung pathologischer Gewebsreaktionen durch Antibiotika und Sulfonamide an Hand experimenteller Untersuchungen. Verh. Dtsch. Path. Ges. 39, 123-128 (1956)

16) Ehrlich, P. — Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus. Eine farbenanalytische Studie. Berlin 1885

17) Fasske, E. — Enzymhistochemische Untersuchungen des akuten Entzündungsfeldes. Frankf. Zschr. Path. 73, 296-3o5 (1963-4)

18) Fine, G., A. Morales and J.R. Scerpella — Experimental Myocardial Infarction. Arch. Path. Chicago 9, 82-84 (1966)

19) Fraser, D. A.M. Rappaport, C.A. Vuylsteke and A.R. Collwell — The effects of the ligation of the hepatic artery in dogs. Surgery S. Louis, 3o, 624-641 (1951)

2o) Freerksen, E., E. Krüger-Thiemer und M. Rosenfeld — Cycloserin. Antibiot. et Chemother. (Basel) 6, 3o3-396 (1959)

21) Friede, R. — Inverse histochemical distribution of fat and oxydative enzymes in fatty livers produced by carbon tetrachloride. J. Path. Bact. (London) 79, 1o9-113 (196o)

22) Gäbert, H. — Fermentinaktivierung durch Tetracycline. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exper. Path. 25o, 72-83 (1965)

23) Gierke von, G. — Herstellung von Dauerpräparaten mit Oxydasereaktion. Zbl. allg. Path. 27, 318-9 (1916)

24) Gillissen, G. und H.J. Wagner — Die quantitative Beeinflussung der Schwefelwasserstoffbildung von Proteusbakterien durch subbakteriostatische Antibiotikakonzentrationen. Path. et Microbiol. (Basel) 24, 11o7-13 (1961)

25) Glick, D. and E.E. Fischer — Studies in histochemistry. XVI. Methods for histochemical localisation of adenosine triphosphatase, thiamine pyrophosphatase and glycerophosphatase in grains and sprouts. Arch. Biochem. New York 8, 91-96 (1945)

26) Glick, D. and EE. Fischer — Studies in histochemistry. XVII. Localisation of phosphatase in the wheat grain and roots of the germinated grain. Arch. Biochem. New York. 11, 65-79 (1946)

27) Gößner, W. — Untersuchungen über das Verhalten der Phosphatasen und Esterasen während der Autolyse. Virchows Arch. path., Anat. 327, 3o4-313 (1955)

28) Goldberg, H.S., H.H. Weiser and F.E. Deatherage — Studies on meat. IV. Use of antibiotics in preservation of fresh beef. Food Technol. 7, 165-172 (1953)

29) Gomori, G. — Histochemical specifity of phosphatases. Proc. Soc. exper. Biol. Med. N.Y. 7o, 7-11 (1949)

3o) Goslar, H.G., K.H. Jaeger, E. Scheithauer, J. Pichotka — Enzymhistochemische Untersuchungen an der Rattenleber nach unbehandelter und behandelter Tetrachlorkohlenstoffvergiftung. Arzneimittelforsch. 16, 359-364 (1966)

31) Gräff, S. — Eine Anweisung zur Herstellung von Dauerpräparaten bei Anwendung der Naphtholblau-Oxydasereaktion mit einigen Bemerkungen zur Theorie und Technik der Reaktion Zbl. allg. Path. 27, 313-318 (1916)

32) Gräff, S. — Die physikalisch-chemischen Grundlagen des Mi-Effektes der Nadireaktion (Indophenolblausynthese). Zbl. allg. Path. 32, 337-341 (1922)

33) Gräff, S. — Intrazelluläre Oxydation und Nadireaktion. Beitr. path. Anat., Jena 7o, 1-19 (1922)

34) Gräff, S. und A.E. Rappoport — Methoden und Ergebnisse der Wasserstoffionen-Konzentration des tierischen Gewebes. Erg. allg. Path. 33, 181-279 (1937)

35) Grassmann, W. und H. Müller — Amidasen. In: Physiologische Chemie. hrsg. von B. Flaschenträger unter Mitwirkung von E. Lehnartz. 1. Bd. Berlin-Göttingen-Heidelberg S. 1117 (1951)

36) Graumann, W. und K. Neumann — Handbuch der Histochemie. Bd. 7,1 S. 2 Stuttgart 196o

37) Hecht, A. — Fermenthistochemische Frühveränderungen beim experimentellen Herzinfarkt. Virchows Arch. path. Anat. 337, 414-424 (1964)

38) Hecht, A. — Fermenthistochemische Befunde an der Leber bei experimentellen Vitamin B_6-Mangel. Acta biol. med. germ. 13, 273-275 (1964)

39) Herzau, V. — Untersuchungen über Einflüsse auf die Entwicklung der Totenstarre und deren Beziehung zu ATP nach Tetracyclinbehandlung. Med. Diss. Mainz. 1966

4o) Hoffmann-Ostenhof, O., H. Moser und E. Putz — Zur Einteilung und Nomenklatur der übertragenden Enzyme. Enzymologia. 14, 61-71 (195o)

41) Hogeboom, G.H., W.C. Schneider und G.H. Pallade — Cytochemical studies of mammalian tissues; isolation of intact mitochondria from rat liver; some biochemical properties of mitochondria and submicroscopic particulate material. J. Biol. Chem. (Baltimore) 172, 619-635 (1948)

42) Hollande, A.C. — Non spécificité des réactions au bleu d'indophenol et à la benzidine pour la mise en évidence des granulations dites oxydasi ques dans les cellules. Bull. histol. appl. (Paris) 1, 422-44o (1924)

43) Holzner, J.H. und F. Kaufmann — The effect of postmortem autolysis on histochemically demonstrable ATP-ase activity. Path. Microbiol. 25, 193-2o3 (1962)

44) Holzner, J.H. and N. Stefanelli — Enzymhistochemische Veränderungen der Leber bei Hepatitis. Acta- hepato- splenol. 13, 1-14 (1966)

45) Jacobsen, K. und M. Deodata de Azevado
Action d'antibiotiques sur une peptidase et sur l'urease. Compt. rend. Soc. biol. Paris 148, 199-202 (1954)

46) Järnefeld, J.
The nature of active transport mechnism in cell membranes. Ann. Acad. Sci. Fenn. (Med.) 106, Suppl. 10, 1-11 (1964)

47) Jonek, J. und St. Kośmider
Verhalten der Atmungsfermente und der alkalischen Phosphatase in der Leber bei experimenteller Vergiftung mit Quecksilberdämpfen. Arch. Gewerbepath. Berlin 20, 496-506 (1963-64)

48) Jonek, J., A. Pacholek und W. Jerz
Histochemische Untersuchungen über das Verhalten der ATP-ase, 5-Nucleosidase, sauren Phosphatase, sauren Desoxyribonuklease II und der unspezifischen Esterasen in der Leber bei experimenteller Vergiftung mit Quecksilberdämpfen. Arch. Gewerbepath. Berlin 20, 562-571 (1963-64)

49) Jonek, J., H. Waclawczyk, St.Kośmider und A. Cichon
Histochemische Untersuchungen einiger Enzyme in Nieren bei experimenteller Vergiftung mit Quecksilberdämpfen. Zbl. Arbeitsmed. Darmstadt 9, 205-210 (1964)

50) Jonek, J., G. Jonderko und M. Krauze
Histochemische Untersuchungen über die Lokalisation und Aktivität der 5-Nucleotidase, ATP-ase, sauren Phosphatase und der unspezifischen Esterasen in der Leber bei experimenteller Manganvergiftung. Arch. Gewerbepath. Berlin 21, 241-251 (1964-65)

51) Jonek. J., H. Grzybek, M. Kaminski und D. Kochanska
Histochemische Lokalisation verschiedener Enzyme in der Mäuseleber bei akuter Benzolvergiftung. Arch. Gewerbepath. Berlin 22, 342-353 (1966)

52) Kaplan, M.O.
Thermodynamics and mechanism of the phosphate bond. In: The Enzymes, hrsg. von J.B. Summer and K. Myrbäck, 2.Bd 1, New York (1951) S. 55-113

53) Karlson, P. — Kurzes Lehrbuch der Biochemie. 5. Auflage Stuttgart 1966

54) Kauffmann, N., T.L. Gavan and R.W. Hill — Experimental myocardial infarction in the rat. Arch. Path. Chicago 67, 482-488 (1959)

55) Keilin, D. and E.F. Hartree — Cytochrome and Cytochromeoxydase. Proc. Roy. Soc. Biol. Sc. 127, 167-191 (1939)

56) Keilin, D. and E.F. Hartree — Succinic dehydrogenase- cytochrome system of cell. Intracellular respiratory system catalysing aerotic oxydation of succinic acid. Proc. Roy. Soc. Biol. Sc. 129, 227-3o6 (194o)

57) Keilin, D. and E.F. Hartree — Activity of the succinic dehydrogenase system in different tissue preparations. Biochem. J. 44, 2o5-218 (1949)

58) Lang, K. und G. Siebert — Die chemischen Leistungen der morphologischen Zellelemente. In: Physiologische Chemie. hrsg. von B. Flaschenträger unter Mitwirkung von E. Lehnartz. 2. Bd. Berlin- Göttingen - Heidelberg 1954, S. 1o89

59) Laves, W. — Gepufferte Methylenblaulösungen zur Bakterienfärbung in Schnittpräparaten fauler Organe. Dtsch. Zschr. gerichtl. Med. 17, 44-47 (1931)

6o) Maengwyn-Davis, G.D., J.S. Friedenwald and R.T. White — Substrate specifity of enzymes hydrolyzing adenosine-triphosphate, muscle and yeast-adenylic acids, and creatinephosphate at high pH; the histochemical demonstration of myosin ATP-ase. J. Cellul. Comp. Physiol. Philadelphia 39, 395-447 (1952)

61) Markowitz, J., A. Rapport and A.C. Scott — The function of the Hepatic Artery in the dog. Amer. J. Digest. Dis. 16, 344-348 (1949)

62) Merkel, H.
Über Todeszeitbestimmung an menschlichen Leichen.
Dtsch. Zschr. gerichtl. Med. 15, 285-291 (1922)

63) Minovici, N., M. Kernbach und C. Cottutiu
Kritische Untersuchungen über histologische und histochemische Veränderungen bei der Leichenfäulnis in Beziehung zur Todeszeitbestimmung.
Dtsch. Zschr. gerichtl. Med. 14, 383-4oo (193o)

64) Moog, F.
Cytochromeoxydase in early chick embryos.
J. Cellul. Comp. Physiol. Philadelphia 22, 223-231 (1943)

65) Moog, F. and H.B. Steinbach
Notes on the possibility of a histochemical method for localizing adenosine triphosphatase.
Science 1o3, 144 (1946)

66) Morales, A. and G. Fine
Early Human Myocardial Infarction.
Arch. Path. Chicago 82, 9-14 (1966)

67) Morgenstern, S.
Experimentelle Ergebnisse zur Frage des Temperatureinflusses auf die Leichenstarre.
Dtsch. Zschr. gerichtl. Med. 9, 718-722 (1927)

68) Mosonyi, L.
Die Wirkung der Antibiotika auf die Zellen.
Antibiot. et Chemother. Basel 5, 23o-299 (1958)

69) Mueller, B.
Mastdarmtemperatur der Leiche und Todeszeit.
Dtsch. Zschr. gerichtl. Med. 28, 172 (1937)

7o) Mueller, B.
Das Verhalten der Mastdarmtemperatur der Leiche unter verschiedenen äußeren Bedingungen.
Dtsch. Zschr. gerichtl. Med. 29, 158-162 (1938)

71) Mueller, B.
Zur Frage der Unterscheidung von vitalen bzw. agonalen und postmortalen Blutungen.
Acta Med. Leg. Soc. Liège 17, 43-46 (1964)

72) Mueller, B. — Untersuchungen über die Histologie der Totenflecke. Dtsch. Zschr. gerichtl. Med. 4o, 499-51o (195o)

73) Nachlass, H., D.T. Crawford, T.P. Globstein and A.M. Seligman — The histochemical demonstration of cytochrome oxydase with a new reagent for the Nadireaction. J. Histochem. Cytochem. 6, 445-456 (1958)

74) Naidoo, D. and O.E. Pratt — The localisation of some acid phosphatases in brain tissue. J. Neurol. London 14, 287-294 (1951

75) Naidoo, D. and O.E. Pratt — Localisation of aneurin pyrophosphatase in brain. J. Neurol. London 15, 146-148 (1952

76) Newman, W. , E. Feigin et al. — Histochemical studies on tissue enzymes. IV. Distribution of some Enzyme systems which liberate phosphate at pH 9,2 as determined with various substrates and inhibitors; demonstration of three groups of enzymes. Amer. J. Path. 26, 257-3o5 (195o)

77) Novikoff A.B. — Histochemical demonstration of nuclear enzymes. Exp. Cell. Res. Suppl. 2, 123-143 (1952)

78) Novikoff, A.B., D.H. Hausman and E. Podber — The localisation of adenosinetriphosphatase in liver; in situ staining and cell fractionation studies. J. Histochem. Cytochem. 6, 61-71 (1958)

79) Padykula, H. and E. Herman — Factors affecting the activity of Adenosine Triphosphatase and other Phosphatases as measured by histochemical techniques. J. Histochem. Cytochem. 3, 16o-167 (1955)

8o) Padykula, H. and E. Herman — The specifity of the Histochemical Method for Adenosine Triphosphatase J. Histochem. Cytochem. 3, 17o-183 (1955)

81) Pearse, E. — Histochemistry. Theoretical and Applied. London 1961

82) Petzold, H. — Histochemische Untersuchungen an der mit Tetrachlorkohlenstoff geschädigten Kaninchenleber. Acta. biol. med. germ. Berlin 2, 7-12 (1959)

83) Pioch. W. — Die histochemische Untersuchung thermischer Hautschäden und ihre Bedeutung für die forensische Praxis. Lübeck 1963.

84) Pratt, O.E. — The proportion of phosphatase activity demonstrable in brain by histological techniques. Biochem. J. 55, 14o-145 (1953)

85) Pratt, O.E. — Some factors affecting rat brain phosphatase activity in fresh tissue suspensions and in histochemical methods. Acta. Biochem. Biophys. 14, 38o-389 (1954)

86) Prenant, M. — Granulations à peroxydase et granulations "oxybenzidinophiles". Bull. Histol. Tech. appl. 2, 329-342 (1925)

87) Raekallio, G. — Die Altersbestimmung mechanisch bedingter Hautwunden mit enzymhistochemischen Methoden. Lübeck 1965.

88) Reh, H. — Diskussionsbeitrag zum Vortrag von H.J. Wagner Dtsch. Zschr. gerichtl. Med. 49, 72o-722 (196o)

89) Reid, E. — Membrane Systems. In: Enzyme Cytology hrsg.v. D.B. Roodyn London, New York 1967 (S. 389)

9o) Roodyn, D.B. — The Mitochondrion. In: Enzyme Cytology hrsg.v. D.B. Roodyn London, New York 1967 (S. 136)

91) Ross, M.H. and J.O. Ely
Alkaline phosphate activity and pH optima.
J. Biol. Chem. (Baltimore) 192, 561-568 (1951)

92) Rudolph, G. und O. Scholl
Histochemische Untersuchungen zum Fermenthaushalt des experimentellen Niereninfarktes.
Beitr. path. Anat. Jena 119, 13-44 (1958)

93) Sandritter, W.
Hundert Jahre Histochemie in Deutschland.
Stuttgart 1964

94) Schleyer, F.
Über physikalische, chemische, hämatologische und histologische Methoden der Todeszeitbestimmung.
Zbl. allg. Path. 99, 5o9-515 (1959)

95) Schmidt, C.G.
Gehirn und Nerven.
In: Physiologische Chemie.
hrsg. von B. Flaschenträger unter Mitwirkung von E. Lehnartz. 2. Bd.
Berlin-Göttingen-Heidelberg 1956
S. 795

96) Schultze, W.H.
Die Oxydasereaktion an Gewebeschnitten und ihre Bedeutung für die Pathologie.
Beitr. path. Anat. Jena 45, 127-153 (19o9)

97) Sebastiani, G.J.
Congelamento e autolisi assettica postmortale. Ricerche prelim.
Ref. in Dtsch. Zschr. gerichtl. Med. 16 29 R (1931)

98) Selles, M.
La putrefaccion cadaverica y su retardo por la intervencion de los antibioticos. Forenses (Madrid) 13, 161 (1956)
Zit. n. Wagner 1o6)

99) Shehiko Okamoto
Chloramphenicol-dihydrostreptomycin and canamycin inactivating enzymes from multiple drug resistant Escherichia Coli carrying episome R.
Nature London 2o8, 13o1-13o3 (1965)

1oo) Singer, T.P. and E.S.G. Barron
Effect of sulfhydryl reagents on adenosine-triphosphatase activity of myosin.
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. New York 56, 12o-124 (1944)

101) Specht, W. — Chemische Abbaureaktionen bei der Leichenzersetzung. Erg. allg. Path. 33 138-180 (1937)

102) Straus, W. — Lysosomes, Phagosomes and related particles. In: Enzyme Cytology hrsg. v. D.B. Roodyn London and New York 1967 S. 267

103) Strugger, S. — Fluoreszenzmikroskopie and Mikrobiologie. Hannover 1949.

104) Wachstein, M. and E. Meisel — Histochemistry of hepatic phosphatases at a physiological pH with special reference to the demonstration of bile caniculi. Amer. J. clin. Path. 27, 13-23 (1957)

105) Wagner, H.J. — Einfluß der Antibiotica und Sulfonamide auf die Leichenfäulnis. Dtsch. Zschr. gerichtl. Med. 49, 714-720 (1960)

106) Wagner, H.J. — Die Bedeutung der Antibiotica und Sulfonamide für Todes- und Tatzeit-Bestimmung in der gerichtlichen Medizin. Habil.Schr. Mainz 1960

107) Wagner, H.J. und G. Gillissen — Bakteriologische Untersuchungen an Tierleichen nach vorausgegangener Antibiotika und Sulfonamidbehandlung Schweiz. Zschr. allg. Path. 23, 311-322 (1960)

108) Walcher, K. — Die späteren Leichenveränderungen. Erg. allg. Path. 33, 55-137 (1937)

109) von Warburg, W.O. und E. Negelein — Über das Absorptionsspektrum des Atmungsferments. Biochem. Zeitsch. 214, 64-100 (1929)

110) Weber, E. — Grundriss der biologischen Statistik Jena 1961, S. 187

111) Willighagen,R.G.J. — Application of histochemical Enzyme methods in pathology. In: v. R. Ruyssen and L. Vandendriessche. Amsterdam 1965 (S. 67-74)

112) Winkler, F. Der Nachweis von Oxydase in den Leucozyten mittels der Dimethyl-paraphenylendiamin-Alphanaphthol Reaktion. Fol. haemat. (Leipzig) 4, 323-328 (19o7)

113) Yazdanfar, A. Histochemische Untersuchungen über das postmortale Verhalten der alkalischen und sauren Phosphatase unter Antibiotikaeinfluß. Med. Diss. Mainz 1963.

114) Zollinger, H.U. Phasenmikroskopische Beobachtungen über Zelltod. Schweiz. Zschr. allg. Path. 11, 276-282 (1948)

Ich danke Herrn Professor Dr. med. H.-J. Wagner für die freundliche Überlassung des Themas und die hilfreiche Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Herrn Professor Dr. med. H. Leithoff danke ich, daß er das Zustandekommen der Arbeit ermöglichte.

Herrn Dr. med. H. Faßl vom Institut für Medizinische Statistik und Dokumentation (Direktor: Professor Dr. phil. Dr. med. S. Koller) danke ich für die Hilfe bei der Planung der Versuche, sowie bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse.

Lebenslauf

Am 3o.1.194o wurde ich in Mainz geboren. Hier verbrachte ich meine Kindheit und Jugendzeit. 1959 bestand ich das Abitur am Gymnasium am Kurfürstlichen Schloss in Mainz. Anschließend studierte ich ein Semester Germanistik an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz. Ab Wintersemester 1959/6o begann ich hier das Medizinstudium. Dieses absolvierte ich mit Ausnahme des zweiten klinischen Semesters, welches ich in Wien studierte, in Mainz und legte hier im Juli 1966 mein Medizinisches Staatsexamen ab.

Vom August 1966 bis Juli 1967 war ich als Medizinalassistent im Institut für gerichtliche Medizin der Universität Mainz angestellt und neben den Routinearbeiten mit wissenschaftlicher Mitarbeit in der Histochemie betraut. In diesem Rahmen entstand die vorliegende Arbeit.

Anschließend verbrachte ich vier Monate in der Chirurgie und zwei Monate in der Augenklinik der Universität Mainz. Es folgten sechs Monate in der Inneren Klinik der Städtischen Kliniken Wiesbaden und vier Monate in der Frauenklinik des gleichen Hauses.

Am 2. Januar 1969 erhielt ich meine Approbation und bin seit dieser Zeit als Assistenzarzt in der Frauenklinik Bahnholz in Wiesbaden angestellt.